



**Universidade Federal de Santa Catarina**  
**Centro de Ciências Físicas e Matemáticas**  
**Departamento de Química**  
**Programa de Pós-Graduação em Química**

Pedro Santos Mello de Oliveira

Relações lineares de energia livre: Reexaminando Reações de  
Substituição Nucleofílica em Triésteres de Fosfato.

Tese submetida ao Programa de Pós  
Graduação em Química da  
Universidade Federal de Santa  
Catarina para obtenção do Grau de  
Doutor em Química.  
Orientador: Prof. Dr. Faruk Nome

Florianópolis  
2012

Catálogo na fonte pela Biblioteca Universitária  
da  
Universidade Federal de Santa Catarina

O48r Oliveira, Pedro Santos Mello de  
Relações lineares de energia livre [tese] : reexaminando  
as reações de substituição nucleofílica em triésteres de  
fosfato / Pedro Santos Mello de Oliveira ; orientador, Faruk  
Nome. - Florianópolis, SC, 2012.  
1 v.: grafs., tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina,  
Centro de Ciências Físicas e Matemáticas. Programa de Pós-  
Graduação em Química.

Inclui referências

1. Química. 2. Ésteres - Fosfatos. 3. Hidrólise. I. Nome  
Aguilera, Faruk José. II. Universidade Federal de Santa  
Catarina. Programa de Pós-Graduação em Química. III. Título.

Nome completo do autor

**TÍTULO: SUBTÍTULO (SE HOVER)**

Este (a) Dissertação/Tese foi julgado(a) adequado(a) para  
obtenção do Título de “....”, e aprova(o)a em sua forma final pelo  
Programa ...

Local, x de xxxxx de xxxx.

---

Prof. xxx, Dr.  
Coordenador do Curso

**Banca Examinadora:**

---

Prof.<sup>a</sup>, Dr.<sup>a</sup> xxxx,  
Orientadora  
Universidade xxxx

---

Prof.<sup>a</sup>, Dr.<sup>a</sup> xxxx,  
Co-Orientadora  
Universidade xxxx

---



Para minhas meninas Mika, Liloca e Bellinha.



## **AGRADECIMENTOS**

Gostaria de agradecer ao Professor Faruk Nome pela orientação e amizade nestes 4 anos. À Professora Haidi Nome que, junto ao Professor Faruk, me deram a oportunidade de trabalhar no Laboratório de Catálise e Fenômenos Interfaciais. À doutoranda Michelle Medeiros e ao Professor Tiago Brandão, por todo o empenho em me ajudar no desenvolvimento deste trabalho. Ao Professor Anthony John Kirby, Professor Nicholas H. Williams e Almahdi Amer pela constante colaboração e ajuda na interpretação dos resultados.

Aos professores que aceitaram participar da banca, o Dr. Omar Abou Moneim El Seoud (IQ – USP), Dra. Ivani Malvestitti (IQ – UFPE), Dra. Maria da Graça Nascimento (Departamento de Química – UFSC), Dr. Ademir Neves (Departamento de Química – UFSC) e o Dr. Hugo Alejandro Gallardo Olmedo (Departamento de Química – UFSC).

Aos amigos do LaCFI pela paciência comigo, pelas longas conversas de química, outras tantas sobre frivolidades, pelos conselhos e dicas, mas, principalmente, pela paciência e carinho com minhas filhas, por todas as vezes que precisei levá-las comigo para o laboratório. Bruno Silveira de Souza, Lizandra Maria Zimmermann, Alex Molina Manfredi, Gizelle Inácio Almerindo, José Ramón Mora, Natasha Londero, Franciane Dutra Souza, Eduardo Hillmann Wanderlind, Elisa Souza Orth, Raphaell Junnio Moreira, Marcos Maragno Peterle, Elder Correia Leopoldino, Luciano Albino Giusti, André Guilherme Künitz, vocês foram imprescindíveis para este trabalho.

Aos funcionários da Pós – Graduação em Química Maria da Graça Hoeller e Jadir Carminatti por todo o auxílio, conselhos e dicas ao longo deste período.

Aos meus amigos e amigas do Desterro Rugby Clube, que me proporcionaram momentos de descontração e lazer desde que cheguei à Florianópolis.

Aos órgãos de fomento CAPES, CNPq, INCT-Catálise e FAPESC.

Por fim, gostaria de agradecer à minha família. Meus pais, Regina Lúcia Gadioli dos Santos e Renato Luiz Mello de Oliveira que me deram uma das coisas mais importantes da vida: oportunidade à educação. Meus irmãos Barbara Santos Mello de Oliveira e Rafael Santos Leão de

Souza, que estão me dando força há 30 anos. Às três mulheres que estão sempre ao meu lado me incentivando nessa longa trajetória: Maria Mikaella Pitta Oliveira, minha companheira querida que sempre esteve ao meu lado e sem ela nada disso seria possível. Às minhas filhas Liz Morena Pitta Oliveira e Ana Bella Pitta Oliveira que em seus 5 e 3 anos de vida, respectivamente, conseguiram compreender os momentos de ausência nas brincadeiras quando eu dizia: “papai não pode agora porque tem de escrever a tese.” Em geral, essa frase era seguida por outra da Liz Morena: “Ai Meu Deus! Tese, tese, tese! Escreve logo isso, guri!



Quem pergunta é bobo por cinco minutos.  
Quem não pergunta é bobo para sempre.  
Confúcio



## RESUMO

No presente trabalho foram preparados e estudadas as reações de hidrólise dos triésteres de fosfato tri-piridil fosfato (**9**), dietil-2-piridil fosfato (**22**), metil di-2-piridil (**23**) fosfato, tri-3-nitrofenil fosfato (**25a**), tri-4-nitrofenil fosfato (**25b**), e tri-3-clorofenil fosfato (**25c**). As reações de hidrólise espontânea dos triésteres contendo o grupo piridil foram estudadas em diferentes condições de temperatura, pH e solvente. Devido à baixa solubilidade em água dos triésteres **25a-c**, as reações de hidrólise dos mesmos foram acompanhadas em diferentes misturas de acetonitrila/água para permitir obter, por extrapolação, as constantes de hidrólise espontânea de cada triéster. O alto valor de constante de hidrólise espontânea do triéster **9** ( $2,2 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ ) e o elevado efeito isotópico ( $k_{\text{H}}/k_{\text{D}} = 3,15$ ) foram, inicialmente, interpretados como uma evidência de catálise básica geral intramolecular. No entanto, estudos cinéticos posteriores com os triésteres triarílicos **25a-c** mostraram que os mesmos são mais reativos que sistemas dialquil arílicos. Assim, os grupos espectadores, alquil ou aril, podem aparentemente contribuir em diferentes extensões para a reatividade dos triésteres de fosfato. Com isso, em reações de substituição nucleofílica em triésteres de fosfato, além das sensibilidades ao grupo de saída e aos nucleófilos, medidas através de  $\beta_{\text{LG}}$  e  $\beta_{\text{Nu}}$ , respectivamente, o papel dos grupos espectadores torna-se importante. A partir de relações lineares de energia livre do tipo de Brønsted – a influência dos grupos espectadores pode ser determinada, e um novo parâmetro definido como  $\beta_{\text{NLG}}$  foi determinado para caracterizar a participação dos grupos espectadores. No que diz respeito à reatividade de triésteres de fosfato, as poucas evidências encontradas na literatura sugeriam que os grupos espectadores tinham pouca ou nenhuma influência e, a correlação de Khan e Kirby vinha sendo utilizada para calcular ou prever a reatividade destes compostos. No entanto, as evidências aqui apresentadas indicam que triaril ésteres de fosfato têm reatividades que dependem dos grupos espectadores. Os valores de  $\beta_{\text{NLG}}$  encontrados para os sistemas triarilados e di-alquil arilados foram 0,29 e 0,60 respectivamente. De fato, apesar de sofrerem menor influência dos grupos espectadores, os triésteres de fosfato triarilados são mais reativos que sistemas di-alquil arilados e, estes últimos sofrem maior influência de grupos espectadores. Por fim, os resultados deste trabalho agregam à literatura existente novas correlações lineares de energia livre, esclarecendo e quantificando os efeitos dos grupos espectadores em reações de hidrólise de triésteres de

fosfato, aspecto até então considerados pouco importantes neste tipo de reação.

**Palavras-chave:** relações lineares de energia livre; triésteres de fosfato; hidrólise.

## ABSTRACT

In the present work phosphate triesters pyridyl tri-phosphate (**9**), diethyl-2-pyridyl phosphate (**22**), methyl-di-2-pyridyl (**23**) phosphate, tri-3-nitrophenyl phosphate (**25a**) tri-4-nitrophenyl phosphate (**25b**), and tri-3-chlorophenyl phosphate (**25c**) were prepared. The spontaneous hydrolysis of the reactions containing the pyridyl group were studied under different conditions of temperature, pH and solvent. Due to low water solubility of the **25a-c**, the hydrolyses reactions were followed in different mixtures of acetonitrile / water in order to obtain, by extrapolation, the constants of the spontaneous hydrolysis of each triester. The high value of spontaneous hydrolysis constant of triester **9** ( $2.2 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ ) and the high isotope effect ( $k_{\text{H}} / k_{\text{D}} = 3.15$ ) were initially interpreted as evidence for intramolecular general base catalysis. However, subsequent kinetic studies with the triaryl phosphates **25a-c** showed that these compounds are considerably more reactive than the corresponding dialkyl aryl system. Thus, the spectator groups, alkyl or aryl, can apparently contribute in different extents to the reactivity of phosphate triesters. So, in nucleophilic substitution reactions of phosphate triesters, besides the sensitivities to the leaving group and to the nucleophile, measured as  $\beta_{\text{LG}}$  and  $\beta_{\text{Nu}}$ , respectively, the role of spectator groups becomes important. From Brønsted type linear free energy relationship – the influence of spectator groups can be determined, and a new parameter defined as  $\beta_{\text{NLG}}$  was proposed to characterize the participation of spectator groups. Regarding the reactivity of phosphate triesters, evidence found in the literature suggested that spectators groups had little or no influence and the correlation of Khan and Kirby had been used to calculate or predict the reactivity of these compounds. However, new evidence presented in this work indicate that triaryl phosphate triesters have reactivities that depend upon the spectator groups. The values of  $\beta_{\text{NLG}}$  found for triaryl and dialkyl aryl systems were 0.29 and 0.60 respectively. In fact, despite suffering smaller influence from spectator groups, the triaryl phosphate triesters are more reactive than di-alkyl aryl triesters and, the latter are more influenced by spectator groups. Finally, the results of this study add to existing literature new linear free energy correlations, clarifying and quantifying the effects of spectator groups in the hydrolysis of phosphate triesters, aspects previously considered unimportant in this type of reaction.

**Keywords:** linear free energy relationship; phosphate triesters; hydrolysis.



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Compostos contendo fósforo e suas diferentes aplicações. ...	29
Figura 2: Estruturas de ésteres fosfóricos, genericamente chamados de ésteres de fosfato. ....	30
Figura 3: Triésteres de fosfato tóxicos a alguns seres vivos.....	31
Figura 4: Transferência do grupo fosfato. ....	31
Figura 5: Monoéster de fosfato quiral. ....	32
Figura 6: Mecanismo <i>adjacente</i> . ....	32
Figura 7: Constantes de velocidade para reação intramolecular ( $k_1$ ) e intermolecular ( $k_2$ ) seguindo o mecanismo de catálise básica geral.....	35
Figura 8: Hidrólise do monoéster <b>8</b> catalisada por $\text{La}^{3+}$ . <sup>19</sup> .....	37
Figura 9: Diagrama hipotético de energia livre para a reação de hidrólise de acetais axiais piranílicos em função do comprimento de ligação C–OR e do $\text{p}K_a$ do grupo de saída.....	38
Figura 10: Reação de substituição nucleofílica sobre o átomo de fósforo onde ocorre transferência de carga. ....	41
Figura 11: Deslocamento endocíclico do íon salicilato.....	42
Figura 12: Reação de hidrólise espontânea do triéster <b>9</b> . ....	42
Figura 13: Síntese de mono e diésteres de fosfato. ....	43
Figura 14: Oxidação de fosfitos utilizando oxigênio singlete e sulfeto de dimetila.....	45
Figura 15: Mecanismo proposto para a reação de oxidação de fosfitos.....	46
Figura 16: Síntese do triéster <b>9</b> .....	50
Figura 17: Síntese do triéster <b>22</b> .....	51
Figura 18: Síntese do triéster <b>23</b> .....	52
Figura 19: Síntese dos triésteres <b>25a-c</b> .....	53
Figura 20: Síntese do triéster <b>28</b> .....	54
Figura 21: Síntese do triéster <b>30</b> .....	55
Figura 22: Síntese do triéster <b>36</b> .....	58
Figura 23: Síntese do triéster <b>40</b> .....	60
Figura 24: Síntese do triéster <b>42</b> .....	61
Figura 25: Síntese do triéster <b>49</b> .....	64
Figura 26: Obtenção do triéster <b>9</b> .....	67
Figura 27: Espectro de massas por eletrospray (ESI-MS) do composto <b>9</b> obtido no modo positivo.....	68
Figura 28: Reação de hidrólise espontânea do composto <b>9</b> .....	69
Figura 29: Espectros sucessivos de UV – Vis da reação de hidrólise espontânea do composto <b>9</b> . Temperatura: 25°C, $\mu=1\text{M}$ . ....	69

Figura 30: Variação de $\log k_{\text{obs}}$ em função do pH para a reação de hidrólise do composto <b>9</b> . Temperatura: 25°C, $\mu=1\text{M}$ .	70
Figura 31: Variação de $\ln k_0/T$ em função do inverso da temperatura para a reação de hidrólise do composto <b>9</b> .	73
Figura 32: Comparação entre as entalpias de ativação das respectivas reações de hidrólise espontânea do triéster <b>9</b> e do dialquil 2,4 dinitrofenilfosfato <b>50</b> . <sup>13</sup>	75
Figura 33: Incorporação de $\text{H}_2^{18}\text{O}$ : 2-piridona protonada, $\text{DPyP}+\text{H}^+$ e $\text{DPyP}+\text{K}^+$ respectivamente analisados por espectrometria de massa por eletrospray	76
Figura 34: Hipótese cineticamente equivalente de catálise básica geral intramolecular (IGBC) e catálise ácida geral intramolecular (IGAC).	79
Figura 35: Variação de $k_n/k_0$ em função de $n$ para reação de hidrólise espontânea do triéster <b>9</b> .	80
Figura 36: Espectros sucessivos de RMN de $^1\text{H}$ da reação de hidrólise do composto <b>9</b> . 200 MHz, solvente: $\text{D}_2\text{O}$ .	81
Figura 37: Possibilidades de catálise básica.	83
Figura 38: Preparação de triésteres de fosfatos simétricos triarílicos.	84
Figura 39: Variação de $k_{\text{obs}}$ em função do pH na reação de hidrólise do triéster <b>25a</b> em mistura de 30% acetonitrila:água, 25°C.	85
Figura 40: Variação do $\log k_{\text{obs}}$ em função da porcentagem de acetonitrila para as reações de hidrólise dos triésteres <b>25c</b> (■), <b>25b</b> (●) e <b>25a</b> , 25°C.	87
Figura 41: Preparação do dietil-2-piridilfosfato ( <b>22</b> ).	88
Figura 42: Variação do $\log k_{\text{obs}}$ em função do pH para a reação de hidrólise do triéster <b>22</b> , 45°C.	88
Figura 43: Variação de $\ln(k_{\text{obs}}/T)$ vs $T^{-1}$ para a reação de hidrólise do triéster <b>22</b> protonado, pH 0.	90
Figura 44: Espectros sucessivos de RMN de $^1\text{H}$ da região aromática durante a hidrólise do triéster <b>22</b> em pD 2 (200 MHz, $\text{D}_2\text{O}$ ).	92
Figura 45: Espectros sucessivos de RMN de $^1\text{H}$ (200 MHz) da região alifática durante a hidrólise do triéster <b>22</b> em pD 2 (200 MHz, $\text{D}_2\text{O}$ ).	93
Figura 46: Comparação entre as variações de $\log k_{\text{obs}}$ em função do pH para as reações de hidrólise espontânea do triéster <b>50</b> , 39°C <sup>13</sup> e do triéster <b>22</b> , 45°C.	94
Figura 47: Preparação do triéster <b>23</b> .	94
Figura 48: RMN de $^{31}\text{P}$ (81 MHz) da síntese do triéster <b>23</b> usando $\text{H}_3\text{PO}_4$ 85% como referência externa (200 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).	95
Figura 49: Espectro de RMN de $^{31}\text{P}$ do triéster <b>23</b> (81 MHz, $\text{CDCl}_3$ e $\text{H}_3\text{PO}_4$ 85% como referência externa).	96
Figura 50: Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do triéster <b>23</b> (200 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).	97



Figura 51: Variação de $\log k_{\text{obs}}$ em função do pH para o triéster <b>23</b> . ....	98
Figura 52: Variação de $\log k_{\text{obs}}$ em função do pH para as reações de hidrólise espontânea dos triésteres <b>9</b> (■, 25°C), <b>23</b> (▲, 25°C) e <b>22</b> (●, 45°C). ....	99
Figura 53: di-4-nitrofenil fosfato ( <b>53</b> ) vs. metil-4-nitrofenil fosfato ( <b>54</b> ). ....	100
Figura 54: Gráfico de Brønsted de $\log k_2$ vs. $\text{p}K_{\text{a}}$ de diferentes tampões oxigenados (●) e nitrogenados (■) para a reação de hidrólise do triéster <b>9</b> . ....	103
Figura 55: Classes de triésteres de fosfatos avaliadas através de relações lineares de energia livre. ....	104
Figura 56: Triésteres triarílicos com grupos espectadores e de saída iguais. ....	106
Figura 57: Gráfico de Brønsted de $\log k_0$ vs. $\text{p}K_{\text{a}}$ dos fenóis para hidrólise dos quatro triaril fosfatos <b>9</b> , <b>25c</b> , <b>25b</b> e <b>25a</b> . ....	106
Figura 58: Reações de hidrólise dos triésteres de fosfato contendo os grupos de saída 2-piridona e 4-nitrofenol. ....	108
Figura 59: Estruturas dos triésteres <b>55</b> e <b>56</b> contendo o grupo de saída 4-nitrofenol. ....	109
Figura 60: Correlação do tipo de Brønsted de $\log k_{\text{obs}}$ de triésteres derivados do 4-nitrofenol em função da soma dos $\text{p}K_{\text{a}}$ s dos grupos espectadores. ....	110
Figura 61: Triésteres dialquil arílicos <b>42</b> , <b>45</b> e <b>48</b> . ....	111
Figura 62: Correlação do tipo de Brønsted: variação do $\log k_{\text{obs}}$ para reações de hidrólise dos triésteres de fosfato <b>42</b> , <b>45</b> e <b>48</b> em função $\text{p}K_{\text{a}}$ dos grupos de saída. ....	112
Figura 63: Triésteres dialquil arílicos derivados do 4-nitrofenol utilizados para avaliação do efeito dos grupos espectadores. ....	113
Figura 64: Correlações do tipo de Brønsted: variação do $\log k_{\text{obs}}$ para as reações de hidrólise de triésteres triarilados (●) e dialquil arilados (■) analisados de maneira independente um do outro e considerando-se como grupo de saída o 4-nitrofenol em função do somatório dos $\text{p}K_{\text{a}}$ s dos grupos espectadores. ....	113
Figura 65: Dialquil aril fosfato <b>57</b> derivado da 2-piridona. ....	114
Figura 66: Correlação do tipo de Brønsted para grupos espectadores: variação do $\log k_{\text{obs}}$ ( $\text{s}^{-1}$ ) para a reação de hidrólise espontânea de 2-piridil fosfatos (RO) <sub>2</sub> P(O)–O-2-Py em função da soma dos $\text{p}K_{\text{a}}$ 's ( $\Sigma \text{p}K_{\text{NLG}}$ ) dos dois grupos vizinhos, 25°C. ....	116
Figura 67: Correlação do tipo de Brønsted: variação do $\log k_2$ das reações entre 2-piridil fosfatos (RO) <sub>2</sub> P(O) – O-2-Py e os nucleófilos	

fluoreto e hidróxido em função da soma dos $pK_a$ s dos dois grupos espectadores. ....	120
Figura 68: Reação de deslocamento endocíclico em salicilatos com grupos espectadores dialquil e diaril. ....	121
Figura 69: Etapa determinante numa catálise básica geral intramolecular (hipotética) pelo grupo 2-piridil de um triéster. ....	124

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Condições reacionais para as reações de oxidação de fosfitos.	45
Tabela 2: Deslocamentos típicos de RMN de $^1\text{H}$ do triéster <b>9</b> .	68
Tabela 3: Parâmetros cinéticos da reação de hidrólise do triéster <b>9</b> .	72
Tabela 4: constantes de velocidade de hidrólise espontânea de <b>9</b> em diferentes temperaturas	73
Tabela 5: Parâmetros termodinâmicos da reação de hidrólise espontânea do triéster <b>9</b> .	74
Tabela 6: Identificação dos produtos de hidrólise do triéster <b>9</b> por RMN de $^1\text{H}$ .	82
Tabela 7: Constantes de velocidade para a hidrólise espontânea de triaril fosfatos simétricos em acetonitrila aquosa. <sup>a</sup>	86
Tabela 8: Dados cinéticos obtidos a partir do ajuste do gráfico de $\log k_{\text{obs}}$ em função do pH para a hidrólise do triéster <b>22</b> .	89
Tabela 9: Constantes de velocidade observadas para a hidrólise do triéster <b>22</b> protonado.	90
Tabela 10: Parâmetros termodinâmicos do triéster <b>22</b> protonado obtidos a partir do gráfico de $\ln k_{\text{obs}}/T$ em função do inverso da temperatura.	91
Tabela 11: Dados cinéticos obtidos do perfil de pH do triéster <b>23</b> .	98
Tabela 12: Catálise por tampão na reação de hidrólise do triéster <b>9</b> . <sup>a</sup>	102
Tabela 13: Constantes de velocidade para a catálise por tampão (NMM) na hidrólise de sete triaril fosfatos a 25°C. <sup>a</sup>	105
Tabela 14: Constantes de velocidade $k_0$ para a hidrólise espontânea de dialquil e diaril 4-nitrofenilfosfatos. <sup>1</sup>	109
Tabela 15: Dados de $pK_a$ e cinéticos para a hidrólise de triésteres $(\text{CF}_3\text{CH}_2\text{O})_2\text{P}(=\text{O})\text{OAr}$ (dialquil arilados) <sup>a</sup>	111
Tabela 16: Constantes de velocidade $k_0$ para a hidrólise espontânea de di-alkil e/ou aril 2-piridil fosfatos $(\text{RO})_2\text{P}(\text{O})\text{O}-2\text{-Py}$ medidos (estimados) em água a 25°C.	115
Tabela 17: Constantes de velocidade $k_2$ para as reações entre nucleófilos e 2-piridil fosfatos $(\text{RO})_2\text{P}(\text{O})\text{O}-2\text{-Py}$ medidas em água a 25°C.	119
Tabela 18: Sensibilidade ao grupo de saída e aos grupos espectadores em reações de transferência do grupo fosfato de triésteres.	126
Tabela 19: Constantes de velocidade de hidrólise do triéster <b>9</b> em função do pH, 25°C e $\mu=1,0\text{ M}$ .	135
Tabela 20: Razão $k_N/k_0$ em função da fração atômica de deutério	136
Tabela 21: Constantes de velocidade para a hidrólise do triéster <b>22</b> em função do pH/ $\text{H}_0$ , a 45°C e $\mu=1,0\text{ M}$ (KCl).	137

Tabela 22: Constantes de velocidade de hidrólise do <b>23</b> em função do pH.....	138
Tabela 23: Constantes de velocidade de hidrólise dos triésteres <b>25a</b> , <b>25b</b> e <b>25c</b> em diferentes concentrações de acetonitrila. ....	139
Tabela 24: Efeito do tampão (N-metil-morfolina; NMM) nas Constantes de velocidade da reação de hidrólise de sete triaril fosfatos a 25°C. <sup>a</sup> .	140
Tabela 25: Efeito do tampão (acetato) nas Constantes de velocidade da hidrólise de quatro triésteres de fosfato dialquil arílicos a 25°C. <sup>a</sup> .....	143

## LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1: Mecanismo do tipo dissociativo ( $D_N+A_N$ ). <sup>8</sup> .....	31
Esquema 2: Mecanismo <i>em linha</i> .....	32
Esquema 3: Representação das posições apicais e equatoriais.....	33
Esquema 4: Etapa de pseudorrotação (interconversão entre os grupos). .....	33
Esquema 5: Diagrama de More O’Ferrall – Jencks: Mecanismo dissociativo (i-iii-iv), associativo (i-ii-iv) e concertado (i-iv). ....	34
Esquema 6: Modelo de mecanismo enzimático da superfamília da Fosfolipase D. ....	36
Esquema 7: Clivagem das ligações P–O e C–O. ....	39
Esquema 8: Quebra da ligação P–O <i>versus</i> quebra da ligação C–O.....	39
Esquema 9: Síntese de mono, di e triésteres de fosfato.....	43
Esquema 10: Síntese de triésteres de fosfato com grupos arila diferentes. .....	44
Esquema 11: Síntese do triéster <b>33</b> .....	56
Esquema 12: Síntese do triéster <b>35</b> .....	57
Esquema 13: Síntese do triéster <b>39</b> .....	59
Esquema 14: Síntese do triéster <b>45</b> .....	62
Esquema 15: Síntese do triéster <b>48</b> .....	63
Esquema 16: Equilíbrio entre as espécies neutra, mono e di-protonadas do triéster <b>9</b> .....	71
Esquema 17: Hipótese mecanística de quebra da ligação P–O vs. C–O. .....	76
Esquema 18: Hipótese de catálise nucleofílica na molécula do triéster <b>9</b> . .....	77
Esquema 19: Equilíbrio envolvendo a 2-piridona. ....	83
Esquema 20: Solvólise da mistura de triésteres <b>9/23</b> em MeOH/L <sub>2</sub> O (H <sub>2</sub> O contendo 10% de D <sub>2</sub> O) em pL 8. ....	96
Esquema 21: Quebra/ciclização e isomerização competitivas de triestéres uridil dialquilados <b>58</b> . ....	118
Esquema 22: Mecanismo concertado S <sub>N</sub> 2(P) de hidrólise de triésteres pelo caminho de catálise básica geral.....	122



## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

$[M]^+$  – Massa molecular do íon analisado  
Ar. – Grupo arila  
bis-tris – (Bis-(2-hidróxi-etil)-amino-tris-(hidróxi-metil)-metano)  
CAPS – Ácido *N*-cicloexil-3-aminopropanossulfônico  
d – Dubleto  
dd – Duplo dubleto  
ddd – Duplo duplo dubleto  
DEPP – Di-etil-2-piridil-fosfato (ou trifosfato de di-etil-2-piridila)  
DMSO- $d_6$  – Dimetilsulfóxido deuterado  
DNA – Ácido desoxirribonucleico  
E.T. – Estado de transição  
eq. – Equivalentes  
ESI – MS – Espectrometria de massa de ionização por *spray* de elétrons  
EtO – Grupo etila ligado ao átomo de oxigênio  
 $\hbar$  – Constante de Planck  
 $H_0$  – Função de acidez de Hammett  
HEPPS – Ácido 3-[4-(2-Hidróxi-etil)-1-piperazinil]-propanossulfônico  
Hz – Hertz  
IGAC – Catálise ácida geral intramolecular  
IGBC – Catálise básica geral intramolecular  
INT. – Intermediário  
J – Constante de acoplamento escalar  
 $K$  – Constante de equilíbrio  
 $k$  – Constante de velocidade  
 $k_0$  – Constante de velocidade da espécie neutra  
 $k_B$  – Constante de Boltzmann  
 $k_{\text{hid}}$  – Constante de velocidade de hidrólise  
 $\text{L}_2\text{O}$  – Equilíbrio entre as espécies deutério e hidrogênio  
LG – Grupo de saída (*leaving group*)  
Lit. – Literatura  
M – Concentração molar  
 $m/z$  – Relação entre massa ( $m$ ) e carga ( $z$ ) do íon  
MES – Ácido 2-(*N*-morfolino)-etanossulfônico  
MHz – Megahertz  
NLG – Grupo espectador ou grupo vizinho (*non leaving group*)  
NMM – *N*-metil-morfolina  
Nu – Nucleófilo  
*p*NP – Grupo 4-nitrofenil  
quint. – Quinteto

RLEL – Relações lineares de energia livre

RMN de  $^1\text{H}$  – Ressonância magnética nuclear de hidrogênio

RMN de  $^{31}\text{P}$  – Ressonância magnética nuclear de fósforo

RNA – Ácido ribonucleico

s – Singleto

$\text{S}_{\text{NC}}$  – Substituição nucleofílica no átomo de carbono

$\text{S}_{\text{NP}}$  – Substituição nucleofílica no átomo de fósforo

t – Tripleto

$t_{1/2}$  – Tempo de meia vida

TPyP – tri-2-piridil fosfato

TMS – tetrametilsilano

TRIS – tris-(hidróxi-metil)-aminometano

TSP – (3-trimetil-silil-propionato de sódio)

u.e. – unidades de entropia

U.V. – ultravioleta

*vs.* – *versus*

$\beta$  – coeficiente de Brønsted; parâmetro de sensibilidade

$\beta_{\text{LG}}$  – coeficiente de Brønsted; parâmetro de sensibilidade ao grupo de saída

$\beta_{\text{NLG}}$  – coeficiente de Brønsted; parâmetro de sensibilidade ao grupo espectador

$\beta_{\text{Nu}}$  – coeficiente de Brønsted; parâmetro de sensibilidade ao nucleófilo

$\delta$  – Deslocamento químico

$\delta_{\text{H}}$  – Deslocamento químico do átomo de hidrogênio

$\delta_{\text{F}}$  – Deslocamento químico do átomo de flúor

$\delta_{\text{P}}$  – Deslocamento químico do átomo de fósforo

$\epsilon$  – coeficiente de absorvidade molar

$\mu$  – Força iônica

$\Sigma$  – Somatório

$\chi$  – Fração molar



## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>29</b>
1.1. JUSTIFICATIVA .....	29
1.2. QUÍMICA DOS ÉSTERES DE FOSFATO .....	30
1.2.1. <i>Mecanismos de transferência do grupo fosfato</i> .....	31
1.3. MOLARIDADE EFETIVA.....	34
1.3.1. <i>Mecanismo de substituição nucleofílica</i> .....	37
1.4. RELAÇÕES LINEARES DE ENERGIA LIVRE .....	39
1.4.1. <i>Classes de relações lineares de energia livre</i> .....	40
1.5. PREPARAÇÃO DE ÉSTERES DE FOSFATO .....	42
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>47</b>
<b>3. PARTE EXPERIMENTAL.....</b>	<b>49</b>
3.1. REAGENTES .....	49
3.2. EQUIPAMENTOS .....	49
3.3. SÍNTESE DOS TRIÉSTERES DE FOSFATO .....	50
3.3.1. <i>Preparação de triésteres de fosfato derivados da 2-piridona</i> .....	50
3.3.2. <i>Obtenção do triéster 23 a partir do experimento de solvólise da mistura 9/23</i> .....	52
3.3.3. <i>Procedimento geral para a preparação de ésteres de fosfato triarílicos contendo grupos arila iguais</i> .....	53
3.3.4. <i>Preparação de triésteres de fosfato</i> .....	54
3.4. MÉTODOS CINÉTICOS .....	64
3.4.1. <i>Parâmetros de ativação (termodinâmicos)</i> .....	65
3.4.2. <i>Inventário de prótons</i> .....	65
3.4.3. <i>Incorporação de <math>H_2^{18}O</math> na reação de hidrólise do triéster 9</i> .....	65
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>67</b>
4.1. PREPARAÇÃO DO TRIÉSTER 9 (TRI-2-PIRIDIL FOSFATO) .....	67
4.1.1. <i>Efeito do pH na reação de hidrólise do triéster 9 (TPyP)</i> .....	68
4.1.2. <i>Parâmetros termodinâmicos e efeito isotópico do solvente na reação de hidrólise espontânea do triéster 9</i> .....	72
4.1.3. <i>Determinação da regioseletividade da reação de hidrólise do triéster 9 – Incorporação de <math>H_2^{18}O</math></i> .....	75
4.1.4. <i>Efeito isotópico do solvente na reação de hidrólise espontânea do triéster 9</i> .....	78

4.1.5.	<i>Estimativa do número de prótons envolvidos no estado de transição da reação de hidrólise do triéster 9 -Inventário de prótons</i>	79
4.1.6.	<i>Identificação dos produtos da reação de hidrólise do composto 9 por RMN de <math>^1\text{H}</math></i>	81
4.2.	PREPARAÇÃO DE TRIÉSTERES DE FOSFATO COM GRUPOS ARILA IGUAIS	84
4.2.1.	<i>Efeito do pH nas reações de hidrólise de ésteres de fosfato triarílicos <math>(\text{ArO})_3\text{P}=\text{O}</math></i>	85
4.2.2.	<i>Efeito do pH na reação de hidrólise do triéster 25a</i>	85
4.2.3.	<i>Determinação de <math>k_0</math> das reações de hidrólise de ésteres de fosfato triarílicos simétricos <math>(\text{ArO})_3\text{P}=\text{O}</math></i>	86
4.3.	PREPARAÇÃO DO DIETIL-2-PIRIDILFOSFATO ( <b>22</b> )	87
4.3.1.	<i>Influência do pH na reação de hidrólise do triéster 22</i>	88
4.3.2.	<i>Determinação dos parâmetros termodinâmicos da reação de hidrólise espontânea do triéster 22 protonado <math>(\text{DEPyPH}^+)</math></i>	89
4.3.3.	<i>Identificação de produtos por RMN de <math>^1\text{H}</math> da hidrólise do triéster 22</i>	91
4.4.	PREPARAÇÃO DO METIL-DI-2-PIRIDIL FOSFATO ( <b>23</b> )	94
4.4.1.	<i>Solvólise da mistura 9/23</i>	95
4.4.2.	<i>Efeito do pH na reação de hidrólise do triéster 23</i>	97
4.5.	RELAÇÕES LINEARES DE ENERGIA LIVRE EM REAÇÕES DE HIDRÓLISE DE TRIÉSTERES DE FOSFATO	100
4.6.	CATÁLISE POR TAMPÃO	101
4.6.1.	<i>Catálise básica geral na hidrólise do triéster 9</i>	101
4.7.	RELAÇÕES LINEARES DE ENERGIA LIVRE – SISTEMAS AVALIADOS	104
4.7.1.	<i>Relação linear de energia livre para ésteres de fosfato triarílicos com grupos espectadores e de saída iguais</i>	105
4.8.	RELAÇÕES LINEARES DE ENERGIA LIVRE DE REAÇÕES DE HIDRÓLISE DE TRIÉSTERES DE FOSFATO DERIVADOS DO 4-NITROFENOL	107
4.8.1.	<i>Efeito dos grupos espectadores</i>	107
4.8.2.	<i>Efeito do grupo de saída</i>	110
4.8.3.	<i>Efeito dos grupos espectadores alcóxi vs arilóxi</i>	113
4.9.	HIDRÓLISE DE TRIÉSTERES DE FOSFATO DERIVADOS DA 2-PIRIDONA	114
4.10.	REAÇÕES DE TRIÉSTERES COM NUCLEÓFILOS	117
4.10.1.	<i>Mecanismo de transferência de grupo fosfato</i>	121

4.11. REAVALIAÇÃO DO MECANISMO DE CATÁLISE BÁSICA GERAL INTRAMOLECULAR PROPOSTO PARA A REAÇÃO DE HIDRÓLISE DO TRIÉSTER <b>9</b> .....	123
<b>5. CONCLUSÕES .....</b>	<b>125</b>
<b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>129</b>
<b>7. ANEXOS .....</b>	<b>135</b>
7.1. DADOS CINÉTICOS DO TRIÉSTER <b>9</b> (TPyP).....	135
7.2. DADOS CINÉTICOS DO INVENTÁRIO DE PRÓTONS DO TRIÉSTER <b>9</b> (TPyP) .....	136
7.3. DADOS CINÉTICOS PARA A REAÇÃO DE HIDRÓLISE DO TRIÉSTER <b>22</b> .....	137
7.4. DADOS CINÉTICOS PARA A REAÇÃO DE HIDRÓLISE DO TRIÉSTER <b>23</b> .....	138
7.5. DADOS CINÉTICOS PARA A REAÇÃO DE HIDRÓLISE DOS TRIÉSTERES <b>25A</b> , <b>25B</b> E <b>25C</b> .....	139
7.6. DADOS DE CATÁLISE POR TAMPÃO DE TRIARIL FOSFATOS...	140
7.7. DADOS DE CATÁLISE POR TAMPÃO DE DIALQUIL ARIL FOSFATOS.....	143
7.8. LISTA DE ESTRUTURAS .....	145



## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1. Justificativa

Nos últimos 50 anos, o conhecimento acerca dos compostos fosforados expandiu rapidamente, constituindo-se num novo ramo da química. O aumento do interesse acadêmico e tecnológico nestes compostos resultou em grande volume e diversidade de suas aplicações. O átomo de fósforo é extramamente versátil estruturalmente, pois pode apresentar diferentes números de coordenação. Ao contrário do carbono, que forma apenas estruturas tetravalentes estáveis, o fósforo apresenta compostos estáveis tri, tetra e pentavalentes.<sup>1</sup> Esta característica o destaca em diferentes ramos da química tais como Química de Coordenação, Bioquímica e Química Orgânica. Em cada uma dessas áreas, diferentes compostos contendo fósforo são utilizados ou estudados. Devido à esta versatilidade, a química do fósforo vem se tornando cada vez mais atraente, permitindo a síntese de diversos reagentes fosforados úteis em inúmeras aplicações, da biologia à ciência de materiais.<sup>2</sup> A figura 1 ilustra as inúmeras aplicações que envolvem este elemento.

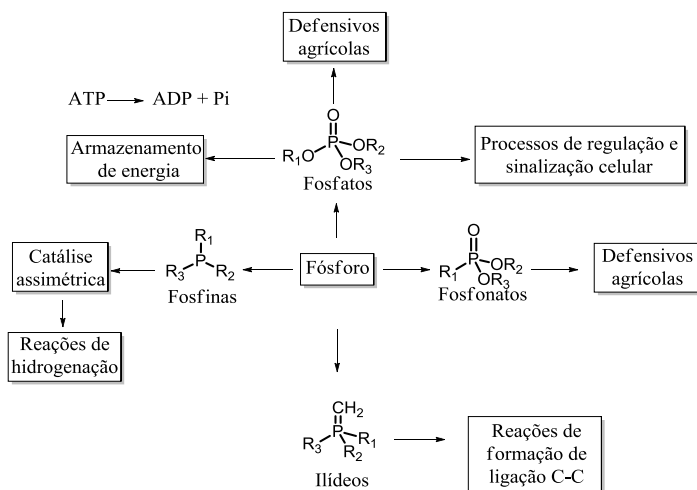


Figura 1: Compostos contendo fósforo e suas diferentes aplicações.

## 1.2. Química dos ésteres de fosfato

Fosfatos podem ser definidos, de maneira ampla, por compostos que contêm uma estrutura básica do tipo  $(RO)_3P=O$ . Fosfatos substituídos são aqueles que têm, em lugar de um dos átomos de oxigênio do grupo OR ligado ao fósforo, outro átomo, por exemplo, nitrogênio ou enxofre. São classificados quimicamente como mono, di ou triésteres de acordo com o grau de substituição dos hidrogênios ionizáveis (Figura 2).

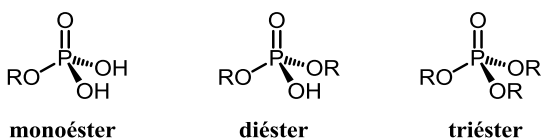


Figura 2: Estruturas de ésteres fosfóricos, genericamente chamados de ésteres de fosfato.

Os mono e diésteres de fosfato possuem 1 e 2 grupos éster, respectivamente, enquanto que os triésteres não apresentam hidrogênios ionizáveis. No que tange o aspecto bioquímico, compostos contendo o grupo fosfato têm sido amplamente estudados com o intuito de se compreender os mecanismos envolvidos na transferência deste grupo funcional em sistemas biológicos. Mono e diésteres de fosfato desempenham um importante papel biológico nos seres vivos, onde estão amplamente distribuídos; Monoésteres de fosfato participam de processos de sinalização e regulação celular, onde diversos aminoácidos fosforilados derivados da serina, treonina e tirosina) são desfosforilados por três diferentes tipos de fosfatases. Dois tipos de fosfatases, PPP e PPM, são responsáveis por desfosforilar resíduos de fosfoserina e fosfotreonina, enquanto PTPs são responsáveis pela desfosforilação de resíduos de fosfotirosina.<sup>3</sup> Os diésteres de fosfato estão presentes no DNA e RNA, estruturas responsáveis por armazenar e transportar a informação genética.<sup>1</sup> Os triésteres de fosfato não ocorrem naturalmente e alguns são reconhecidamente tóxicos aos organismos vivos, como o paration (1) e o malation (2) (Figura 3, p.31).

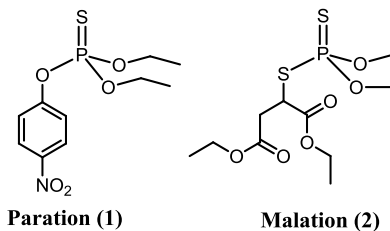


Figura 3: Triésteres de fosfato tóxicos a alguns seres vivos.

Estes triésteres, são capazes de inibir a atividade enzimática da acetilcolinesterase, podendo levar o indivíduo à morte em pouco tempo.<sup>4</sup>

### 1.2.1. Mecanismos de transferência do grupo fosfato

Uma reação de transferência do grupo fosfato, tal como na Figura 4, pode ocorrer por dois tipos de mecanismo.

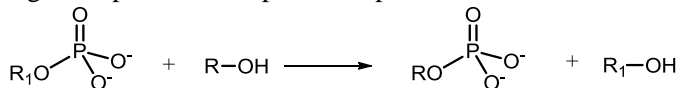
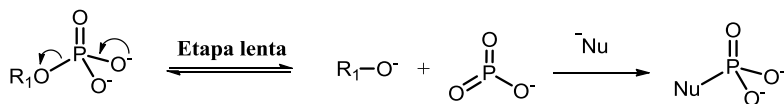


Figura 4: Transferência do grupo fosfato.

Uma possibilidade mecanística a ser considerada é ocorrer um processo puramente dissociativo, onde a etapa determinante da velocidade de reação é a formação do ânion instável e estrutura planar metafosfato (Esquema 1),<sup>5-7</sup> seguido da adição do nucleófilo ao átomo de fósforo.



Esquema 1: Mecanismo do tipo dissociativo ( $\text{D}_\text{N}+\text{A}_\text{N}$ ).<sup>8</sup>

No entanto, apesar deste íon ser observado em fase gasosa,<sup>9</sup> ainda não o foi em solução. Além disso, o esperado para a reação envolvendo um íon metafosfato planar seria a racemização dos produtos, mas quando o éster é quiral como na Figura 5 (p.32), observa-se

inversão da configuração. Isto sugere um mecanismo parcialmente associativo em meio aquoso.<sup>10</sup>

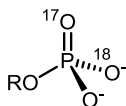
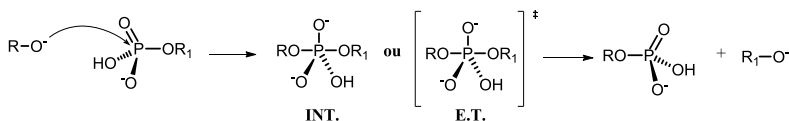


Figura 5: Monoéster de fosfato quiral.

No mecanismo do tipo associativo ( $A_N+D_N$ ), ocorre, primeiramente, adição do nucleófilo para gerar uma espécie pentavalente que em seguida elimina o grupo de saída. Este tipo de mecanismo pode ocorrer de duas maneiras:

- (i) mecanismo *em linha*,<sup>1,11</sup> onde o ataque do nucleófilo ocorre pelo lado oposto ao do grupo de saída; no caso de um fosfato assimétrico, esse mecanismo implica em inversão da configuração (Esquema 2).



Esquema 2: Mecanismo *em linha*.

- (ii) há, ainda, a possibilidade de um mecanismo *adjacente*, onde o nucleófilo entra no mesmo lado do grupo de saída (Figura 6).

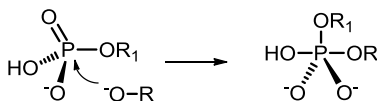
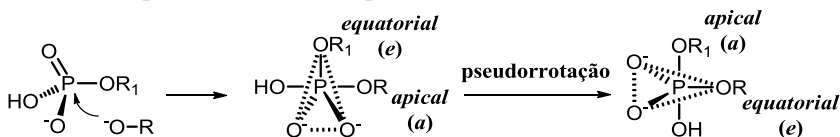


Figura 6: Mecanismo *adjacente*.

No mecanismo associativo, os grupos podem assumir duas posições distintas, classificadas como apical e equatorial. No mecanismo associativo em linha, o nucleófilo e o grupo de saída assumem as posições apicais naturalmente. No mecanismo associativo

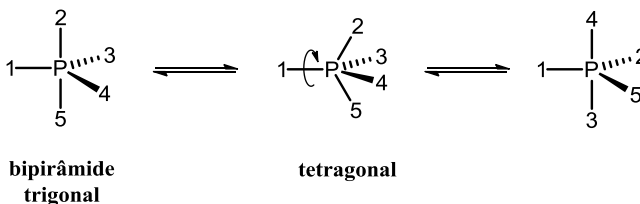


adjacente, ocorre uma etapa adicional, consequência da simetria do intermediário pentacovalente com geometria de bipirâmide trigonal. Uma vez que o nucleófilo assume a posição apical quando entra, o grupo de saída encontra-se na posição equatorial. Pelo princípio de reversibilidade microscópica, se o nucleófilo entra pela posição apical, o grupo de saída deve sair pela mesma posição. Essa etapa adicional é chamada de pseudorrotação (Esquema 4).<sup>12</sup>



Esquema 3: Representação das posições apicais e equatoriais.

A justificativa para que ocorra essa troca de posições reside no fato de ser pequena a diferença de energia entre as geometrias bipirâmide trigonal e tetragonal (Esquema 5, p.36).



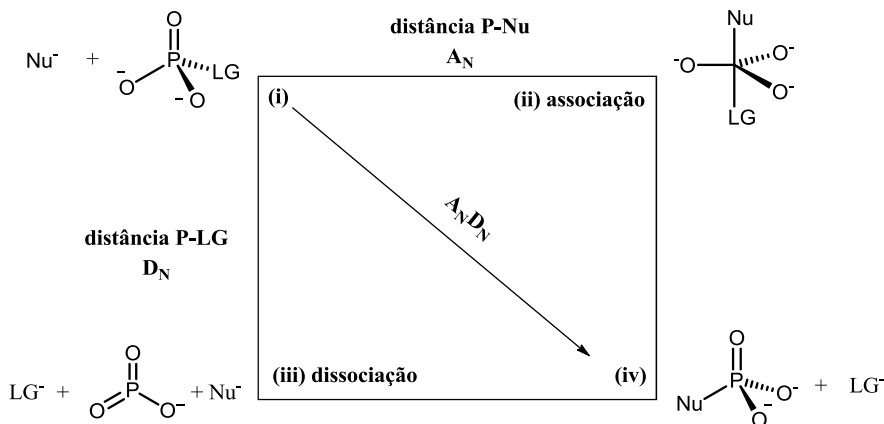
Esquema 4: Etapa de pseudorrotação (interconversão entre os grupos).

No esquema acima, há uma conversão para a pirâmide tetragonal, onde a rotação sobre a ligação 1-P leva a uma estrutura equivalente que retorna para uma geometria bipirâmide trigonal, onde a posição dos ligantes foi interconvertida.

#### 1.2.1.1. Diagrama de More O-Ferral Jencks

O diagrama de More O-Ferral Jencks é uma ferramenta muito didática para representar as reações de transferência do grupo fosfato. Analogamente ao processo de formação de carbocátion ( $S_N1$ ) na química do carbono, o mecanismo dissociativo procede através da liberação do grupo de saída (LG) e formação do íon metafosfato

hidratado ( $\text{PO}_3^-$ ) pela coordenada i–iii–iv no Esquema 5. O mecanismo associativo segue a coordenada i–ii–iv e passa pela formação de um intermediário pentacoordenado de geometria do tipo bipirâmide trigonal. A coordenada i–iv representa um mecanismo sincrônico e concertado (adição e eliminação em uma etapa) sem formação de um intermediário.



Esquema 5: Diagrama de More O’Ferrall – Jencks: Mecanismo dissociativo (i–iii–iv), associativo (i–ii–iv) e concertado (i–iv).

Em geral, o favorecimento de um mecanismo de transferência do grupo fosfato em detrimento do outro depende de diversos fatores, como o pH da solução, a força do nucleófilo e o  $pK_a$  do grupo de saída ( $\text{LG}$  – *Leaving Group*).<sup>13-15</sup>

### 1.3. Molaridade Efetiva

O conceito de molaridade efetiva foi introduzido por Kirby<sup>16</sup> em 1981 e corresponde à razão entre a constante de velocidade de primeira ordem de uma reação intramolecular e a constante de velocidade de segunda ordem da reação intermolecular correspondente, seguindo o mesmo mecanismo e as mesmas condições (Figura 7, p.35). De maneira simplificada, é dizer qual seria a concentração necessária, na reação intermolecular, do grupo catalítico, para que a constante de velocidade fosse igual à da reação intramolecular.

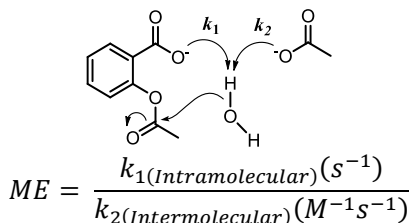
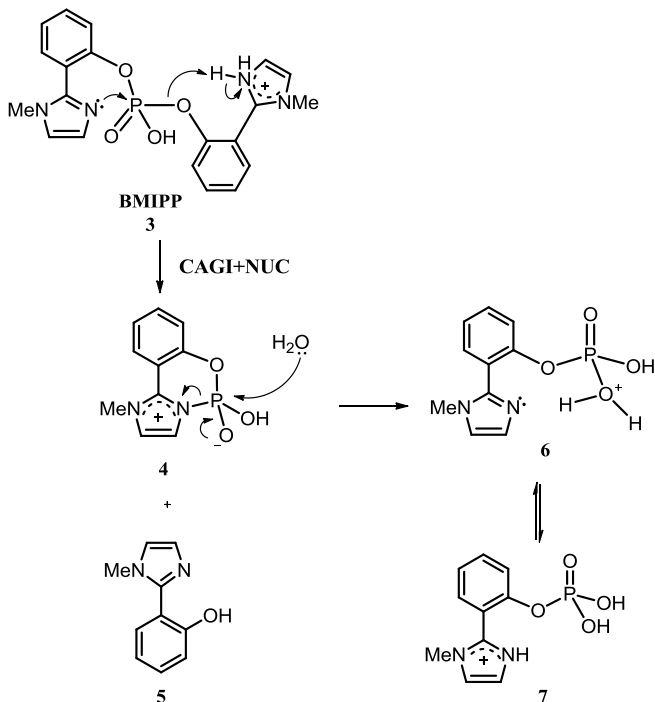


Figura 7: Constantes de velocidade para reação intramolecular ( $k_1$ ) e intermolecular ( $k_2$ ) seguindo o mecanismo de catálise básica geral.

Esta abordagem é muito utilizada quando se estuda modelos não miméticos de catálise enzimática para compreensão das reações envolvendo transferência do grupo fosfato. Estes modelos caracterizam-se por terem na mesma molécula o grupo funcional responsável pela catálise e o grupo fosfato que é transferido. Um exemplo desta abordagem é a reação de hidrólise do BMIPP (**3**) como modelo não mimético de enzimas da superfamília fosfolipase D. Este modelo foi estudado por Orth e colaboradores e alia catálise ácida geral intramolecular (CAGI) e catálise nucleofílica (NUC) (Esquema 6, p.36).<sup>17</sup>



Esquema 6: Modelo de mecanismo enzimático da superfamília da Fosfolipase D.

No modelo acima, um grupo imidazol atua como nucleófilo ligando-se ao átomo de fósforo e o grupo de saída é assistido pelo outro grupo imidazol adjacente. Esta conformação permite uma catálise de  $10^6$  vezes, quando comparado com a reação de hidrólise do difenil fosfato.<sup>15</sup> A reação de transferência do grupo fosfato, especialmente de monoésteres de fosfato, são muito lentas, mas quando catalisadas por cinases e fosfatases, ocorrem em segundos.<sup>18</sup> Este aumento extraordinário da velocidade da reação está relacionado à presença de metais no sítio ativo da enzima. Souza e colaboradores<sup>19</sup> estudaram o mecanismo de hidrólise do 8-quinolil fosfato (8QP, **8**) (Figura 8, p.37) catalisado por lantanídios como modelo não mimético de catálise enzimática e observaram um aumento de  $10^7$  vezes na constante de velocidade da reação na presença de íons  $\text{La}^{3+}$  comparado à reação não catalisada. Evidências como alta sensibilidade ao grupo de saída e estabilização do íon metafosfato pelo  $\text{La}^{3+}$ , além de baixa sensibilidade

da reação à nucleófilos, indicam que a etapa  $D_NA_N$  seja favorecida, passando por um estado de transição dissociativo.

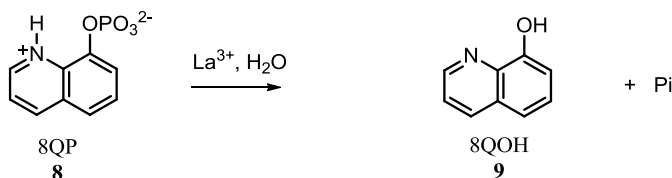


Figura 8: Hidrólise do monoéster **8** catalisada por  $\text{La}^{3+}$ .<sup>19</sup>

### 1.3.1. Mecanismo de substituição nucleofílica

Kirby e colaboradores,<sup>20</sup> defendem que dados estruturais tais como comprimento de ligação e ângulos são importantes para a compreensão da reatividade dos compostos e devem estar relacionados ao  $pK_a$  e constantes de velocidade de reações.<sup>21</sup> Segundo Kirby, “quanto mais longa a ligação, mais prontamente ela pode ser quebrada heteroliticamente”, sugerindo que as maiores ligações C–OR seriam mais fortemente polarizadas no estado inicial. Como exemplo, pode-se citar o trabalho de Briggs<sup>22</sup> onde, numa reação de hidrólise de acetais piranílicos com diferentes fenóis substituídos, a velocidade de cada reação está intimamente relacionada ao comprimento da ligação C–O. Este, por sua vez, está relacionado ao  $pK_a$  do grupo de saída (Figura 9, p.38).

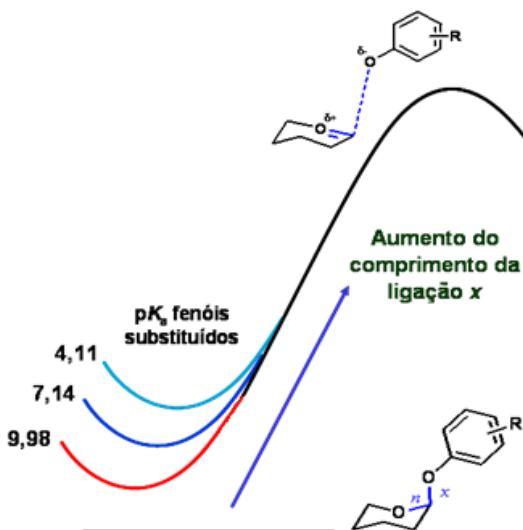
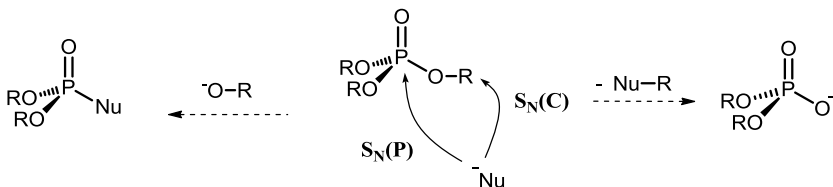


Figura 9: Diagrama hipotético de energia livre para a reação de hidrólise de acetais axiais piranílicos em função do comprimento de ligação C-OR e do  $pK_a$  do grupo de saída.

#### 1.3.1.1. Regiosseletividade das reações de substituição nucleofílica em ésteres de fosfato

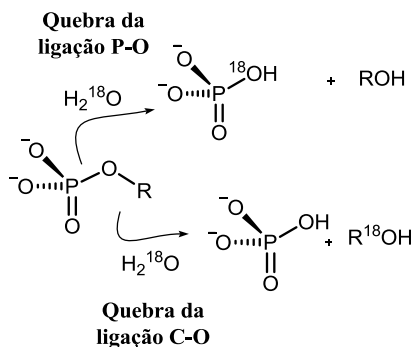
O mecanismo de substituição nucleofílica em ésteres de fosfato pode ocorrer por duas vias. Na primeira, o átomo de carbono da ligação P-O-C do éster é o centro reativo, de característica eletrofílica, e reage com o nucleófilo havendo substituição de todo o grupo fosfato.<sup>23</sup> Por outro lado, o nucleófilo pode atacar o átomo de fósforo central e deslocar o álcool ou o alcóxido via quebra da ligação P-O, mantendo a ligação C-O intacta (Esquema 7, p.39).



Esquema 7: Clivagem das ligações P-O e C-O.

Tais reações podem ser discriminadas pela hidrólise em água rica em  $^{18}\text{O}$ , onde a presença deste isótopo nos produtos da reação, fosfato, álcool, ou mesmo fenol, provê informações acerca da regiosseletividade da reação.<sup>5</sup>

Se houver predomínio da clivagem da ligação P-O, o  $^{18}\text{O}$  estará incorporado ao fosfato; se for da ligação C-O, estará incorporado ao álcool<sup>6</sup> (Esquema 8).



Esquema 8: Quebra da ligação P-O *versus* quebra da ligação C-O.

#### 1.4. Relações lineares de energia livre

O estudo das relações lineares de energia livre (RLELs) foi introduzido por Brønsted<sup>24</sup> e Hammett<sup>25</sup> no início do século XX. Buscando entender quais os efeitos provocados pelos substituintes e a variação eletrônica que ocorre num átomo durante o percurso de uma reação química, Brønsted<sup>24</sup>, Hammett<sup>26</sup> e outros<sup>27</sup> realizaram diversos estudos que pudessem quantificar os efeitos dos substituintes sobre os

diferentes centros reacionais. Desse modo, seu papel na compreensão e dedução de mecanismos é muito importante, pois pode fornecer informações importantes acerca da distribuição de carga no estado de transição de uma reação.<sup>28</sup> Além disso, as RLELs são comumente utilizadas em métodos computacionais para determinação de parâmetros físico-químicos como  $pK_a$  e solubilidade de moléculas. Tais parâmetros podem indicar possível atividade biológica, portanto, úteis para o desenvolvimento de candidatos a fármacos. Por fim, rotas sintéticas também podem ser desenvolvidas com o auxílio das RLELs.<sup>29</sup>

### 1.4.1. Classes de relações lineares de energia livre

Uma RLEL pode ser definida genericamente pela Equação 1, onde o parâmetro  $\alpha$  é chamado de coeficiente de similaridade ou sensibilidade.<sup>i</sup>

$$\Delta G = \alpha \Delta G_s + b \quad \text{Equação 1}$$

$\Delta G$  é a energia livre de um processo obtida de sua constante de velocidade de transformação ( $k$ ) ou equilíbrio ( $K$ ) e  $\Delta G_s$  é a energia de um processo de referência, em geral um equilíbrio, que pode ser o mesmo processo investigado ou do processo de referência. A partir daí, surgem duas classes de RLEL:

- (i) A classe I de RLEL relaciona uma constante de velocidade com uma constante de equilíbrio de um mesmo processo. Nesse caso, o coeficiente de sensibilidade mede o quão se parece o estado de transição com os produtos comparados aos reagentes. Ou seja compara a mudança que ocorre na energia do estado de transição em função da variação na constante de dissociação.
- (ii) A classe II relaciona uma constante de velocidade ou equilíbrio de um processo a de outro processo similar. O coeficiente de sensibilidade mede quanto o grau de conversão ao estado de transição se assemelha à conversão de reagentes em produtos em um sistema de referência.

---

<sup>i</sup> Outras letras gregas como  $\beta$  ou  $\rho$  também são utilizadas para representar o coeficiente de similaridade.



#### 1.4.1.1. Equação do tipo de Brønsted (Classe I)

Brønsted,<sup>24</sup> correlacionou as constantes de acidez ( $pK_a$ s) de compostos aromáticos com as constantes de velocidade de reações que envolvem transferência de carga (Figura 10). O coeficiente de similaridade  $\beta_{LG}$  (Equação 2), indica a sensibilidade do grupo de saída ao efeito dos substituintes no estado de transição e o coeficiente de similaridade  $\beta_{Nu}$  (Equação 3) indica a sensibilidade do nucleófilo ao efeito dos substituintes no estado de transição. De maneira geral, pode-se dizer que os coeficientes  $\beta$  comparam a mudança que ocorre na energia do estado de transição em função da variação na constante de dissociação.

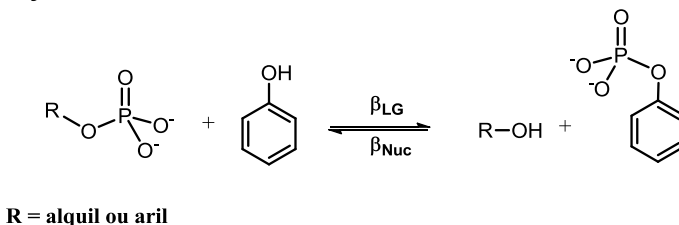


Figura 10: Reação de substituição nucleofílica sobre o átomo de fósforo onde ocorre transferência de carga.

$$\log \frac{k^X}{k^H} = \beta_{LG} pK_a \quad \text{Equação 2}$$

$$\log \frac{k^X}{k^H} = \beta_{Nu} pK_a \quad \text{Equação 3}$$

Existem vários exemplos na literatura<sup>6,13,15,30</sup> que utilizam as correlações de Brønsted para compreender mecanismos de reações envolvendo o grupo fosfato. No entanto, estes trabalhos sugerem que os grupos espectadores, ou seja, aqueles grupos que estão presentes nas moléculas e não mudam sua natureza eletrônica durante o curso da reação, têm pouco ou nenhum efeito sobre a velocidade da reação estudada. A única comparação direta entre grupos espectadores dialquil e diaril em triésteres de fosfato, na reação de deslocamento endocíclico

do íon salicilato apresenta uma diferença de apenas 50–60 vezes (Figura 11).<sup>3132</sup>

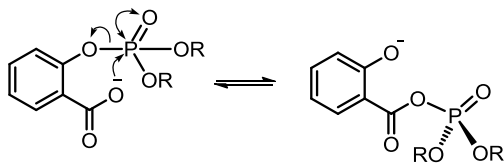


Figura 11: Deslocamento endocíclico do íon salicilato.

Recentemente, nosso grupo de pesquisa estudou a reação de hidrólise espontânea do tri-2-piridil fosfato<sup>33</sup> (**TPyP**, **9**), Figura 12) e este sistema mostrou-se  $10^8$  mais reativo que o esperado para um triéster de fosfato derivado de um fenol com mesmo  $pK_a$ .<sup>13</sup> Mais adiante será discutida a validade dessa afirmativa.

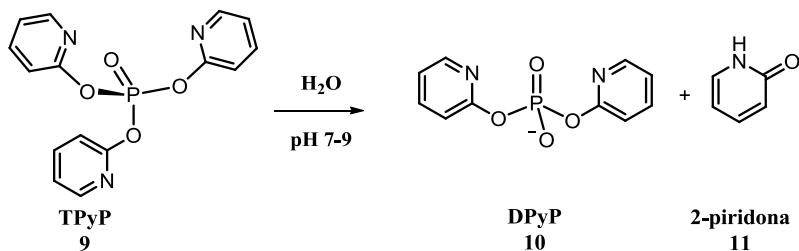


Figura 12: Reação de hidrólise espontânea do triéster **9**.

Dessa maneira, faz-se necessário aprofundar os estudos acerca das reações de transferência do grupo fosfato com o intuito de melhor compreender os efeitos dos grupos espectadores na reatividade de triésteres de fosfato.

## 1.5. Preparação de ésteres de fosfato

Em tese, seria possível obter ésteres de fosfato a partir da reação entre ácido fosfórico e um álcool, mas na prática, não é possível, pois a

reação entre um ácido fosfórico e um álcool, é muito lenta; mesmo sob refluxo por 7 horas, a reação tem baixo rendimento. O emprego de carbodiimidas, em alguns casos, pode ser útil. Um dos métodos mais simples e barato de se obter ésteres de fosfato é reagir pentóxido de fósforo ( $P_2O_5$ ) com um álcool, obtendo-se uma mistura de mono e diésteres que pode ser separada pela diferença de solubilidade entre os respectivos sais de metais alcalinos terrosos (Figura 13).

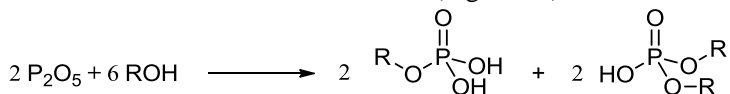
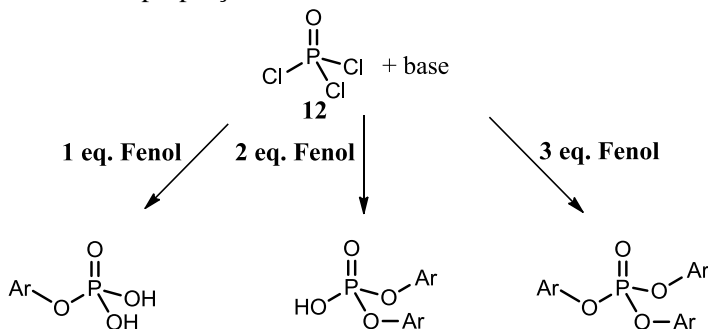


Figura 13: Síntese de mono e diésteres de fosfato.

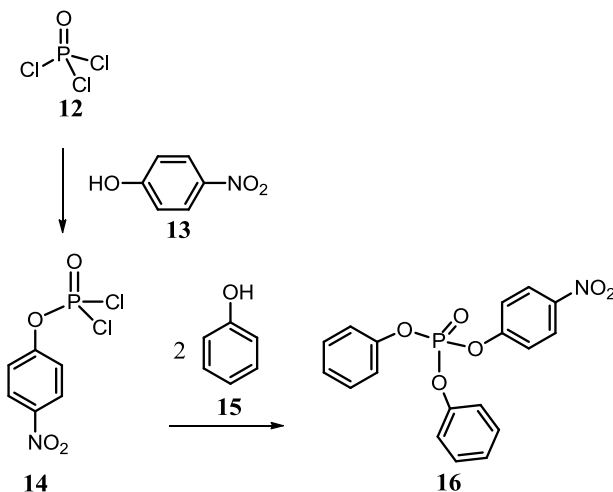
Este método não é muito utilizado porque pode produzir ácido fosfórico e triésteres como subprodutos. Alternativamente, é possível utilizar ácidos polifosfóricos no lugar de  $P_2O_5$ , sendo o procedimento de separação dos produtos análogo ao anterior.

Um reagente bastante versátil e comumente utilizado é o cloreto de fosforila ( $POCl_3$ , **12**) que, ao reagir com fenóis, permite obter mono, di ou triésteres de fosfato, de acordo com a proporção de álcool/fenol utilizada (Esquema 9). A proporção de base utilizada, obviamente, varia de acordo com a proporção de fenol.



Esquema 9: Síntese de mono, di e triésteres de fosfato.

Ésteres de fosfato derivados do 4-nitrofenol **13** podem ser preparados a partir da reação de 1 equivalente de **12** com 1 equivalente deste fenol.<sup>34</sup> O arilfosfodicloridato **14** correspondente pode ser purificado por destilação à pressão reduzida e utilizado em seguida para reagir com fenol **15** (Esquema 10) obtendo-se o triéster desejado **16**.



Esquema 10: Síntese de triésteres de fosfato com grupos arila diferentes.

Porém, este tipo de metodologia tem seu uso bastante restrito no Brasil, pelo fato do  $\text{POCl}_3$  (**12**) se tratar de um reagente controlado pelo Exército, daí a dificuldade em comprá-lo. Alternativamente, pode-se preparar **12** através da reação entre  $\text{PCl}_5$  e  $\text{P}_2\text{O}_5$ . Ao reagir  $\text{Cl}_2$  com  $\text{PCl}_3$ , gera-se  $\text{PCl}_5$  *in situ* que reage com  $\text{P}_2\text{O}_5$ . Conforme a reação vai ocorrendo, o próprio  $\text{POCl}_3$  gerado torna-se o solvente do meio reacional.

Outra maneira de se preparar ésteres fosfóricos é a partir da metodologia desenvolvida por Sofikiti e Stratakis<sup>35</sup> a partir da oxidação de fosfitos **17a-g** utilizando oxigênio singlete. Apesar de fosfitos não serem reativos frente a este oxidante, é possível convertê-los aos seus respectivos fosfatos na presença de sulfeto de dimetila ( $\text{Me}_2\text{S}$ , **18**) (Figura 14, p.45). Esta metodologia é bastante abrangente, podendo-se utilizar fosfitos derivados de fenóis com grupos retiradores ou doadores de elétrons, e apresenta rendimentos excelentes (Tabela 1, p.45) para a obtenção dos fosfatos **19a-g**.

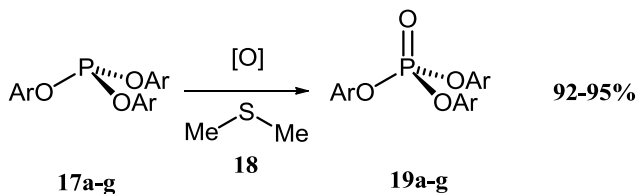


Figura 14: Oxidação de fosfitos utilizando oxigênio singlete e sulfeto de dimetila.

Tabela 1: Condições reacionais para as reações de oxidação de fosfitos.

Entrada*	Ar.	Tempo de reação (min)	Rendimento (%)
<b>17a</b>	Fenil	15	93 <sup>a</sup>
<b>17b</b>	<i>p</i> -Tolil	5	>95 <sup>b</sup>
<b>17c</b>	<i>p</i> -Metoxifenil	5	>95 <sup>b</sup>
<b>17d</b>	<i>p</i> -Clorofenil	5	>95 <sup>b</sup>
<b>17e</b>	<i>p</i> -Iodofenil	15	92 <sup>a</sup>
<b>17f</b>	<i>p</i> -Fluorfenil	5	>95 <sup>b</sup>
<b>17g</b>	<i>m</i> -Clorofenil	5	>95 <sup>b</sup>

\* 1,5 eq. de **18** por eq. de **17a-g**. <sup>a</sup>Rendimento isolado. <sup>b</sup>Rendimento calculado por RMN de <sup>1</sup>H.

Sugere-se que a estrutura do agente oxidante seja os intermediários **20** ou **21** gerados a partir da foto-oxigenação de **18** (Figura 15, p.46).

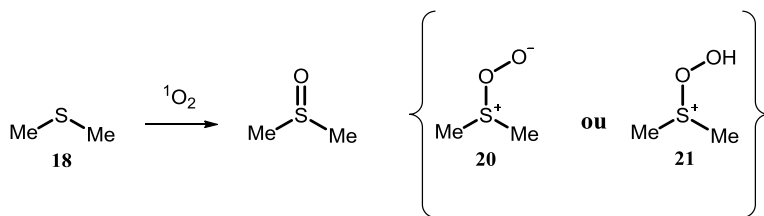


Figura 15: Mecanismo proposto para a reação de oxidação de fosfitos.

## 2. OBJETIVOS

Diante do exposto anteriormente, os objetivos deste trabalho foram propor relações lineares de energia livre que fossem capazes de:

- (i) Compreender a *alta reatividade do triéster 9 (TPyP)*;
- (ii) Quantificar os efeitos dos grupos espectadores alquílicos e arílicos sobre a reatividade de triésteres de fosfato;
- (iii) Reavaliar os efeitos dos grupos de saída nas reações de clivagem de triésteres de fosfato;
- (iv) Reavaliar os efeitos dos nucleófilos fluoreto e hidróxido sobre estas reações;

As estratégias para atingir os objetivos foram:

- (i) Preparar a série homóloga de triésteres de fosfato tri-2-piridil fosfato (**TPyP, 9**), dietil 2-piridil fosfato **22** e metil di-2-piridil fosfato **23** contendo o mesmo grupo de saída 2-piridona (**7**) e diferentes grupos espectadores. sendo esta o grupo de saída;
- (ii) Preparar, a partir dos fenóis 3-nitrofenol **24a**, 4-nitrofenol **24b** e 3-clorofenol **24c**, a série de triésteres de fosfato triarilados com grupos arila iguais tri-3-nitrofenil fosfato **25a**, tri-4-nitrofenil fosfato **25b** e tri-3-clorofenil fosfato **25c**.
- (iii) Realizar estudos cinéticos destes triésteres em diferentes pHs e temperaturas, efeito isotópico de solvente (H<sub>2</sub>O e D<sub>2</sub>O) e inventário de prótons.
- (iv) Caracterizar os produtos por espectrometria de massas e ressonância magnética nuclear de <sup>1</sup>H e <sup>31</sup>P.





### 3. PARTE EXPERIMENTAL

#### 3.1. Reagentes

Os solventes orgânicos foram cuidadosamente secos e as reações foram feitas em condições anidras sob atmosfera inerte (Argônio). Os reagentes e sais inorgânicos, de qualidade P.A. foram utilizados como comprados ou purificados quando necessário. Os solventes deuterados utilizados foram  $\text{CDCl}_3$ ,  $\text{D}_2\text{O}$  e  $\text{DMSO-}d_6$ . As referências internas utilizadas foram TMS ( $\text{CDCl}_3$  e  $\text{DMSO-}d_6$ ) e TSP ( $\text{D}_2\text{O}$ ). Quando necessário, o pH das soluções aquosas foi ajustado utilizando-se NaOD 40% e DCl 37%, ambos obtidos comercialmente da Aldrich.

#### 3.2. Equipamentos

Para acompanhar o consumo dos reagentes e formação dos produtos em função do tempo, foram feitos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  utilizando os equipamentos Varian Mercury Plus 400 MHz ou Bruker AC200. Os deslocamentos químicos estão reportados em  $\delta$  (ppm). Os espectros de U.V. foram obtidos utilizando um espectrofotômetro Varian Cary 50 e HP 5483 avaliando-se os efeitos de (i) pH; (ii) concentração do nucleófilo; (iii) isotópico e (iv) temperatura.

Os espectros de massas ESI-MS foram feitos utilizando um equipamento Shimadzu 2010 EV com a temperatura da interface, CDL e block ajustadas em 250, 250 e 200 °C, respectivamente. O detetor foi mantido em 1,50 KV, o fluxo de  $\text{N}_2$  em 1,5  $\text{L min}^{-1}$  e a fase móvel 3:7  $\text{H}_2\text{O/CH}_3\text{CN}$ . O pH das soluções foi ajustado utilizando-se um pHmetro do tipo Hanna HI 113, as massas dos reagentes foram medidas em balança CHYO JL 180 e a remoção dos solventes à pressão reduzida foi feita utilizando-se evaporadores rotatórios do tipo Buchi R II acoplado a uma bomba de vácuo Buchi V700 controlada por manômetro Buchi V850 e Ika RV 10 acoplado a uma bomba de vácuo Vacuumbrand MZ 2C NT.

### 3.3. Síntese dos triésteres de fosfato

#### 3.3.1. Preparação de triésteres de fosfato derivados da 2-piridona

##### Tri-2-piridil fosfato (**9**):

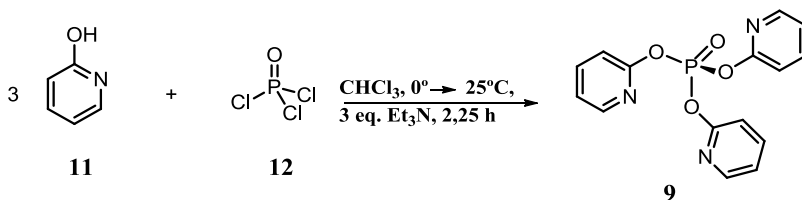
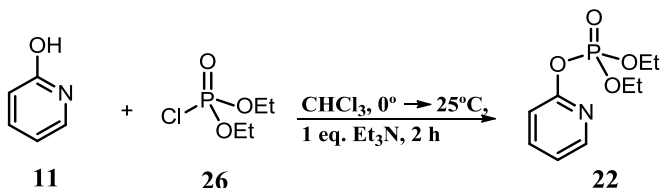


Figura 16: Síntese do triéster **9**.

Adicionou-se, sob atmosfera de argônio e agitação magnética, trietilamina (3,1 mL, 22,3 mmol) à uma solução de 2-piridona **11** (2,07 g, 21,8 mmol) em  $\text{CHCl}_3$  seco (15 mL). A mistura reacional foi resfriada em banho de gelo para adição, gota a gota, de uma solução de **12** ( $\text{POCl}_3$ ) (0,5 mL, 5,5 mmol) em  $\text{CHCl}_3$  (1,5 mL). A reação foi mantida à  $0^\circ\text{C}$  por 10 minutos e, posteriormente, por mais 2 horas à temperatura ambiente. O cloreto de trietilamônio formado foi removido através de filtração por gravidade. O filtrado foi extraído com soluções saturadas de  $\text{NaHCO}_3$  (3x10 mL) e  $\text{NaCl}$  (2x10 mL). A fase orgânica foi seca com  $\text{MgSO}_4$  anidro e evaporada à pressão reduzida para fornecer 1,8 g (90% de rendimento) do produto desejado **9**. P.f.  $55\text{--}56^\circ\text{C}$  (não corrigido). RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta_{\text{H}} = 8,28$  ppm (1H, d,  $J=5,0$  Hz), 7,77 (1H, t,  $J=7,5$  Hz), 7,23 (1H, d,  $J=7,5$  Hz), 7,17 (1H, dd,  $J=5,0$  e 7,5 Hz); RMN de  $^{31}\text{P}$  (81 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta_{\text{P}} = -20,69$  ppm; ESI-MS modo íon-positivo:  $m/z$  (%): calculado para  $\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_4\text{P}^+$ : 330,06; encontrado: 330,05 (100)  $[\text{M}]^+$ .

**Dietil-2-piridil fosfato (22):**Figura 17: Síntese do triéster **22**.

Adicionou-se trietilamina (1,39 mL, 10 mmols) à uma solução de 2-piridona **11** (951mg, 10 mmols) em  $\text{CHCl}_3$  seco (15 mL) sob atmosfera de argônio e agitação magnética. O sistema foi resfriado em banho de gelo, seguido de adição, gota a gota, de  $(\text{EtO})_2\text{POCl}$  **26** (1 eq.) dissolvidos em  $\text{CHCl}_3$  seco (1,5 mL). A agitação foi mantida por mais 10 minutos em banho de gelo e, posteriormente, por 2 horas à temperatura ambiente. Após este período, o cloreto de trietilamônio formado foi removido através de filtração por gravidade e o filtrado foi extraído com solução saturada de  $\text{NaHCO}_3$  e solução salina (solução de  $\text{NaCl}$  saturada). A fase orgânica foi seca com  $\text{MgSO}_4$  anidro por 10 minutos, seguido de filtração por gravidade para remoção do mesmo. O solvente foi removido à pressão reduzida, fornecendo **22** sob a forma de um óleo amarelo. RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$ =8,30 ppm (1H, dd,  $J$ =4,7 e 2,0 Hz), 7,74 ppm (1H, m), 7,14 ppm (1H, dd,  $J$ =5,5 and 5,1 Hz), 7,05 ppm (1H, d,  $J$ =8,2 Hz), 4,33 ppm (quint.,  $J$ = 7,0 Hz), 1,38 ppm (t,  $J$ =7 Hz); ESI-MS íon-positivo:  $m/z$  (%): calculado para  $\text{C}_9\text{H}_{14}\text{NO}_4\text{P}^+$ : 231; encontrado: 231,20 (100)  $[M]^+$ . Rendimento: 90%. O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  não mostrou sinais de impurezas.

### Metil di-2-piridil fosfato (23):

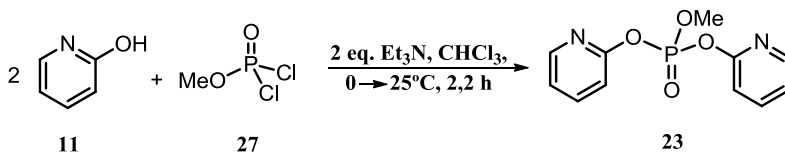


Figura 18: Síntese do triéster **23**.

Adicionou-se trietilamina (1,8 mL, 12,8 mmols) à uma solução de 2-piridona **11** (1,22 g, 12,8 mmols) em  $\text{CHCl}_3$  seco (15 mL) sob atmosfera de argônio e agitação magnética. A mistura reacional foi mantida em banho de gelo para adição, gota a gota, de uma solução de diclorometilfosfato  $\text{MeOPOCl}_2$  **27** (1 eq.) em  $\text{CHCl}_3$  seco (1,5 mL). Manteve-se agitação magnética por 10 minutos a  $0^\circ\text{C}$  e, posteriormente, por mais 2 horas à temperatura ambiente. O cloreto de trietilamônio foi removido através de filtração por gravidade e o filtrado foi extraído com solução saturada de  $\text{NaHCO}_3$  e solução salina ( $\text{NaCl}$  saturada). A fase orgânica foi seca com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro por 10 minutos e o solvente foi removido à pressão reduzida, obtendo-se um óleo amarelo. O espectro de RMN de  $^{31}\text{P}$  mostrou a presença de **9**, bem como do produto desejado **23**.

#### 3.3.2. Obtenção do triéster **23** a partir do experimento de solvólise da mistura **9/23**

A mistura **9/23** foi dissolvida em uma solução de  $\text{MeOH}/\text{L}_2\text{O}$  50% (contendo 10% de  $\text{D}_2\text{O}$ ), tampão TRIS 0,1M e  $\text{pL}=8$  (corrigido pela equação  $\text{pL}=\text{pH} - 0,13$ ).<sup>36</sup> A mistura reacional foi aquecida por 4 horas a  $45^\circ\text{C}$  e acompanhada por RMN de  $^{31}\text{P}$ . Após solvólise completa do **TPP**, solvente foi removido à pressão reduzida e o resíduo obtido foi extraído com diclorometano. O espectro de RMN de  $^{31}\text{P}$  mostrou apenas **23**. O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  mostrou a presença de 2-piridona **11** e **23**. RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **23**:  $\delta=$  8,31 ppm (2H, ddd,  $J=4,7, 2,0$  e  $0,8$  Hz), 7,76 ppm (2H, m), 7,16 ppm (2H, dd,  $J=5,9$  e  $5,1$  Hz), 7,11 ppm (1H, dd,  $J=8,2$  e  $0,8$  Hz), 4,14 ppm (d,  $J_{\text{H-P}}=12,1$  Hz); RMN de  $^{31}\text{P}$  (81 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **23**:  $\delta_{\text{P}}= -11,85$  ppm ( $J_{\text{P-H}}= 12,1$  Hz); ESI-MS modo íon-positivo:  $m/z$  (%): calculado para  $\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_4\text{P}^+$ : 266; encontrado: 266,20 (100)  $[M]^+$ .

### 3.3.3. Procedimento geral para a preparação de ésteres de fosfato triarílicos contendo grupos arila iguais

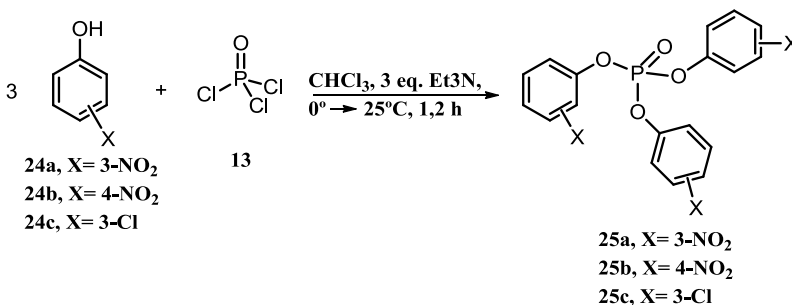


Figura 19: Síntese dos triésteres **25a-c**.

Adicionou-se trietilamina (3 eq.) à uma solução contendo 3 equivalentes de fenol correspondente **24a-c** em CH<sub>3</sub>CN seca (1,23 mmols de fenol/mL de solvente) sob atmosfera de argônio e agitação magnética. O sistema foi resfriado com banho de gelo, seguido de adição, gota a gota, de uma solução de POCl<sub>3</sub> **12** (1 eq.) em CH<sub>3</sub>CN seca (0,82 mmol/mL de solvente). A agitação foi mantida por mais 10 minutos em banho de gelo e, posteriormente, por 1 hora à temperatura ambiente. Após este período, adicionou-se água gelada para precipitar os triésteres. De maneira geral, os triésteres **25a** e **25b** foram purificados através de recristalização utilizando, como solvente, misturas de acetona/água. O triéster **25c** foi obtido sob a forma de um óleo amarelo.

#### Tri-3-nitrofenil fosfato (**25a**):

p.f.: 109-111°C (Lit. 109-110°C).<sup>15</sup> RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ= 8,21-8,13 ppm (multipeto); 7,66-7,63 ppm (multipeto).

#### Tri-4-nitrofenil fosfato (**25b**):

p.f.: 156-158°C. (Lit. 156°C.<sup>37</sup>) RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ= 8,31 ppm (dd, J= 9,2 e 0,6 Hz); 7,44 ppm (dd, J=9,3 e 1,1 Hz).

#### Tri-3-clorofenil fosfato (**25c**):

RMN de <sup>1</sup>H (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ= 7,37-7,13 ppm (mult.); RMN de <sup>31</sup>P (81 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ<sub>P</sub>= -18,02 ppm.

### 3.3.4. Preparação de triésteres de fosfato

Os triésteres de fosfato a seguir foram preparados e estudados pelo Professor Nicholas H. Williams e Almahdi Amer da Universidade de Sheffield, Inglaterra.

#### 3.3.4.1. Preparação de triésteres de fosfato derivados da 2-piridona (**11**)

#### Etil di-2-piridil fosfato (**28**):

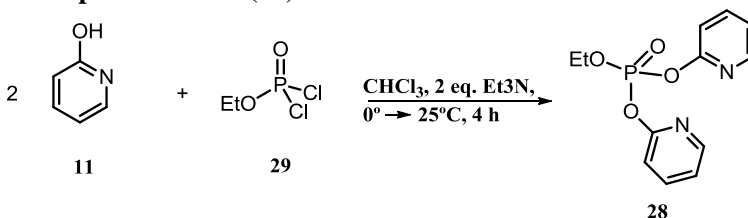


Figura 20: Síntese do triéster **28**.

Adicionou-se, gota a gota, uma solução de 2-piridona **7** (1,17 g, 12,27 mmol) em  $\text{CHCl}_3$  à uma resfriada em banho de gelo de dicloroetilfosfato **29** (1 g, 6,14 mmol) e trietilamina (1,24 g, 12,27 mmol) em  $\text{CHCl}_3$  seco. Manteve-se agitação magnética por 4 horas à temperatura ambiente, período após o qual a mistura reacional foi lavada 2 vezes com solução saturada de  $\text{NaHCO}_3$  e solução saturada de  $\text{NaCl}$ . A fase orgânica foi seca com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro e o solvente removido à pressão reduzida. O resíduo obtido foi purificado por cromatografia em coluna (silica gel, metanol (0  $\rightarrow$  5%) / clorofórmio) obtendo-se 0,45 g (26% de rendimento) do produto desejado **28** sob a forma de um óleo amarelo. RMN de  $^1\text{H}$  (250 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta_{\text{H}}$  = 8,27 ppm (2H, dd,  $J$ =3,5 and 1,6 Hz), 7,71 – 7,75 ppm (2H, m), 7,11 – 7,16 ppm (2H, m), 7,03 ppm (2H, d,  $J$ =8,18 Hz), 4,44 – 4,51 ppm (2H,  $-\text{CH}_2-$ , m), 1,41 ppm (3H,  $-\text{CH}_3$ , t,  $J$ =7,2 Hz); RMN de  $^{31}\text{P}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta_{\text{P}}$  = -13,93 ppm; ESI-MS modo íon-positivo:  $m/z$  (%): calculado para  $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_4\text{P}^+$ : 281,0691; encontrado: 281,0700 (100)  $[M]^+$ .

**4-nitrofenil di-2-piridil fosfato (30):**

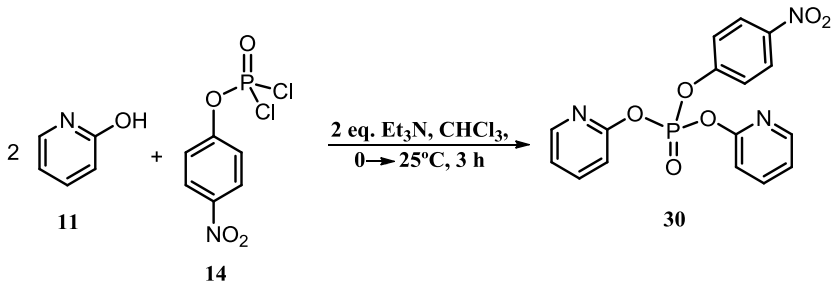
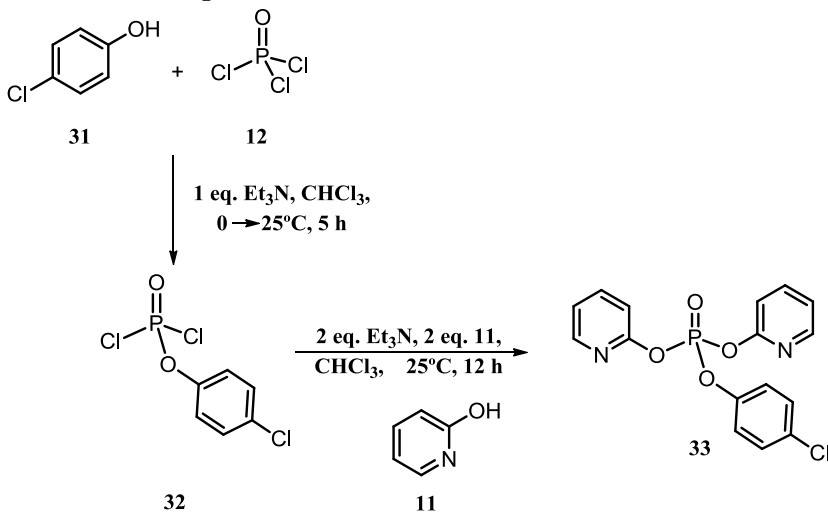


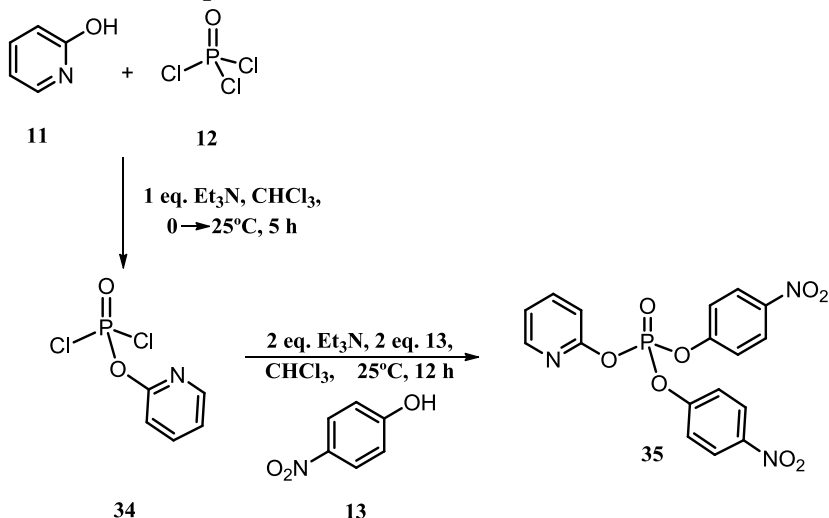
Figura 21: Síntese do triéster **30**.

Adicionou-se, gota a gota, uma solução de 2-piridona **11** (0,74 g, 7,81 mmol) em  $\text{CHCl}_3$  à uma solução resfriada em banho de gelo de 4-nitrofenil diclorofosfato **14** (1 g, 3,9 mmol) e trietilamina (0,79 g, 7,81 mmol) em  $\text{CHCl}_3$  seco. Manteve-se agitação magnética por 15 minutos a 0°C e, posteriormente, por mais 3 horas à temperatura ambiente, período após o qual a mistura reacional foi lavada com solução saturada de  $\text{NaHCO}_3$  e solução saturada de  $\text{NaCl}$ . A fase orgânica foi seca com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro e o solvente removido à pressão reduzida obtendo-se 0,87 g (60% de rendimento) do produto desejado **30**. RMN de  $^1\text{H}$  (250 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta_{\text{H}}$ = 8,25 ppm (2H, dd,  $J$ =3,5 e 1,6 Hz), 7,75 – 7,82 ppm (2H, m), 7,19 ppm (2H, m), 7,10 ppm (2H, d,  $J$ =8,2 Hz), 8,26 ppm (2H, d,  $J$ =9,4 Hz), 7,59 ppm (2H, d,  $J$ =9,4 Hz); RMN de  $^{31}\text{P}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta_{\text{P}}$ = -20,45 ppm; ESI-MS modo íon-positivo:  $m/z$  (%): calculado para  $\text{C}_{16}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_6\text{P}^+$ : 374,0542; encontrado: 374,0538 (100)  $[M]^+$ .

**4-clorofenil di-2-piridil fosfato (33):**Esquema 11: Síntese do triéster **33**.

Adicionou-se, gota a gota, uma solução de **31** (0,84 g, 6,52 mmol) em CHCl<sub>3</sub> à uma solução resfriada em banho de gelo de **12** (1 g, 6,52 mmol) e trietilamina (0,66 g, 6,52 mmol) em CHCl<sub>3</sub> seco. Manteve-se agitação magnética por 5 horas à temperatura ambiente, período após o qual foram adicionados, gota a gota, 2 eq. de trietilamina (1,32 g, 13,04 mmol) e uma solução de **11** (2-piridona) (1,24 g, 13,04 mmol) em CHCl<sub>3</sub>, mantendo-se agitação magnética por 12 horas (*overnight*). A mistura reacional foi lavada com solução saturada de NaHCO<sub>3</sub> e solução saturada de NaCl. A fase orgânica foi seca com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro e o solvente removido à pressão reduzida. Adicionou-se MeCN suficiente para dissolver o resíduo obtido; esta solução saturada foi armazenada em *freezer* até o dia seguinte para promover a precipitação do produto **33** desejado sob a forma de cristais incolores (1,42 g; 60% de rendimento). RMN de <sup>1</sup>H (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ<sub>H</sub>= 8,31 ppm (2H, dd, J=3,5 e 1,6 Hz), 7,75 – 7,82 ppm (2H, m), 7,17 – 7,22 ppm (2H, m), 7,12 ppm (2H, d, J=8,18 Hz), 7,35 ppm (2H, d, J=5,3 Hz), 7,28 ppm (2H, d, J=5,3 Hz); RMN de <sup>31</sup>P (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ<sub>P</sub>= -20,02 ppm; ESI-MS modo íon-positivo: m/z (%): calculado para C<sub>16</sub>H<sub>13</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>PCl<sup>+</sup>: 363,0301; encontrado: 363,0290 (100) [*M*]<sup>+</sup>.



**di-4-nitrofenil 2-piridil fosfato (35):**Esquema 12: Síntese do triéster **35**.

Adicionou-se, gota a gota, uma solução de **11** (1 g, 10,52 mmol) in  $\text{CHCl}_3$  ) em  $\text{CHCl}_3$  à uma solução resfriada em banho de gelo de **12** (1,61 g, 10,52 mmol) e trietilamina (1,06 g, 10,52 mmol)  $\text{CHCl}_3$  seco. Manteve-se agitação magnética por 5 horas à temperatura ambiente. Após este período, adicionou-se 2 eq. of 4-nitrofenol **13** (2,92 g, 21,04 mmol) e trietilamina (2,12 g, 21,04 mmol) em  $\text{CHCl}_3$  seco, mantendo-se agitação magnética à temperatura ambiente por mais 12 horas (*overnight*). A mistura reacional foi lavada com solução saturada de  $\text{NaHCO}_3$  e solução saturada de  $\text{NaCl}$ . A fase orgânica foi seca com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro e o solvente removido à pressão reduzida. Obteve-se 2,65 g (60% de rendimento) de **35** após recristalização utilizando uma mistura 1:1 acetona / hexano. RMN de  $^1\text{H}$  (250 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta_{\text{H}} = 8,25$  ppm (1H, dd,  $J=3,5$  e  $1,6$  Hz),  $7,78$  ppm (1H, m),  $7,22$  ppm (1H, m),  $7,03$  ppm (1H, d,  $J=8,2$  Hz),  $8,31$  ppm (4H, d,  $J=9,4$  Hz),  $7,45$  ppm (4H, d,  $J=9,4$  Hz); RMN de  $^{31}\text{P}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta_{\text{P}} = -20,08$  ppm; ESI-MS modo íon-positivo:  $m/z$  (%): calculado para  $\text{C}_{17}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_8\text{P}^+$ : 418,0440; encontrada: 418,0437 (100)  $[M]^+$ .

### 3.3.4.2. *Preparação de triésteres triarílicos derivados do 4-nitrofenol 13*

#### **di-4-clorofenil-4-nitrofenil fosfato (36):**

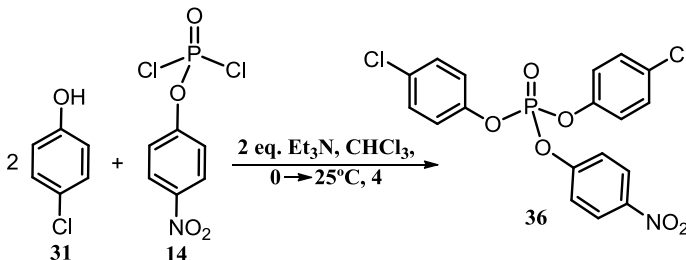
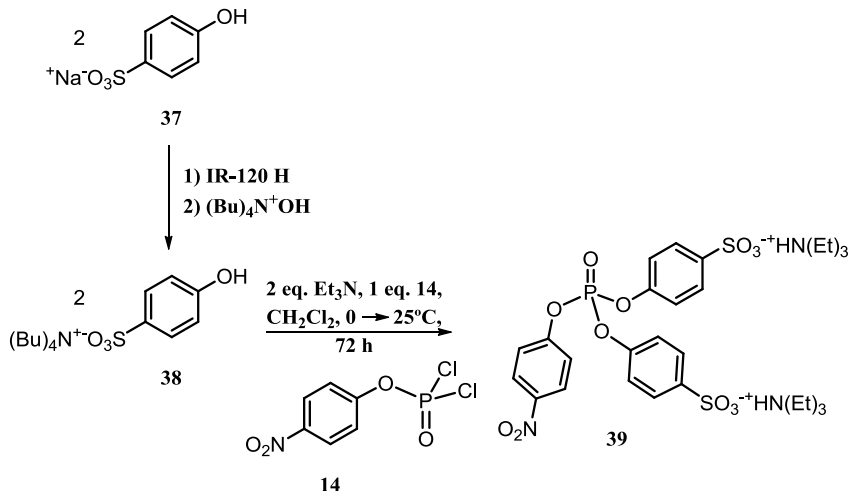


Figura 22: Síntese do triéster **36**.

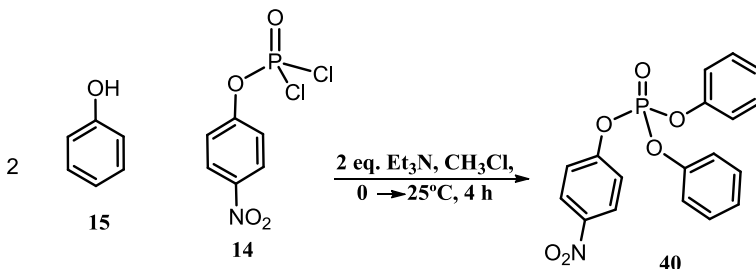
Adicionou-se, gota a gota, uma solução de **31** 4-clorofenol (1 g, 7,8 mmol) em  $\text{CHCl}_3$  à uma solução gelada de **14** (1 g, 3,9 mmol) e trietilamina (0,79 g, 7,8 mmol) em  $\text{CHCl}_3$  seco. A reação foi mantida sob agitação magnética à temperatura ambiente por 4 horas e, após este período, foi lavada duas vezes com solução saturada de  $\text{NaHCO}_3$  e uma vez com solução saturada de  $\text{NaCl}$ . A fase orgânica foi seca com  $\text{MgSO}_4$  e o solvente removido à pressão reduzida. O sólido obtido foi recristalizado utilizando uma mistura de acetona:hexano 1:1, obtendo-se 0,87g (51% de rendimento) do produto **36** desejado sob a forma de cristais incolores. RMN de  $^1\text{H}$  (250 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta_{\text{H}}$ = 8,28 ppm (2H, d,  $J$ =9,1 Hz), 7,40 ppm (2H, d,  $J$ =9,1 Hz), 7,36 ppm (4H, d,  $J$ =8,5 Hz), 7,20 ppm (4H, d,  $J$ =7,8 Hz); RMN de  $^{31}\text{P}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta_{\text{P}}$ = -18,56 ppm; ESI-MS modo íon-positivo:  $m/z$  (%): calculado para  $\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{NO}_6\text{PCl}_2$ : 438,9779; encontrado: 438,9790 (100)  $[M]^+$ .

**di-(4-sulfonatofenil)-4-nitrofenil fosfato de bis-trietilamônio (39):**



Esquema 13: Síntese do triéster **39**.

Converteu-se o sal sódico do 4-sulfonil-fenol à sua forma neutra (ácida) utilizando-se uma resina de troca iônica (IR-120 H). Adicionou-se, em seguida, 1 eq. de hidróxido de tetra-butilamônio dissolvido em água. Após evaporar o solvente, obteve-se o sal 4-sulfonil-fenolato de tetra-butilamônio **38** que é solúvel em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Adicionou-se, gota a gota, uma solução deste sal (6,48 g, 15,63 mmol) em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  à uma solução resfriada em banho de gelo de **14** (2 g, 7,81 mmol) e trietilamina (1,58 g, 15,63 mmol) em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  seco, mantendo-se agitação por 3 dias à temperatura ambiente. Após esse período, o solvente foi removido à pressão reduzida. Obteve-se 0,85 g (15% de rendimento) do produto desejado **39**, sob a forma de sal de trietilamônio, após purificação por cromatografia em coluna (silica gel, metanol (0-20%) / trietilamina 0,5% / clorofórmio). RMN de  $^1\text{H}$  (250 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta_{\text{H}}$ = 8,27 ppm (2H, d,  $J$ =9,1 Hz), 7,41 ppm (2H, d,  $J$ =9,1 Hz), 7,92 ppm (4H, d,  $J$ =8,5 Hz), 7,25 ppm (4H, d,  $J$ =7,85 Hz), 3,12 – 3,21 ppm (12H, m,  $-\text{CH}_2-\text{N}$ ), 1,36 ppm (18H, t,  $-\text{CH}_3$ ,  $J$ =7,2); RMN de  $^{31}\text{P}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta_{\text{P}}$ = -19,31 ppm; ESI-MS modo íon-positivo:  $m/z$  (%): calculado para  $\text{C}_{30}\text{H}_{45}\text{N}_3\text{O}_{12}\text{PS}_2^+$ : 734,2182; encontrado: 734,2173 (100)  $[M]^+$ .

**difenil 4-nitrofenil fosfato (40):**Figura 23: Síntese do triéster **40**.

Adicionou-se, gota a gota, uma solução de fenol **15** (1,1 g, 11,7 mmol) em  $\text{CHCl}_3$ , à uma solução resfriada em banho de gelo de **14** (1,5 g, 5,86 mmol) e trietilamina (1,18 g, 11,7 mmol) em  $\text{CHCl}_3$  seco. Manteve-se agitação magnética por 4 horas à temperatura ambiente sob atmosfera de nitrogênio ( $\text{N}_2$ ). Após esse período, a reação foi neutralizada com solução saturada de  $\text{NaHCO}_3$  e lavada com solução salina saturada. A fase orgânica foi seca com  $\text{MgSO}_4$  e o solvente foi removido à pressão reduzida. Obteve-se 1,62 g (75% de rendimento) do produto desejado **40**. RMN de  $^1\text{H}$  (250 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta_{\text{H}} = 8,26$  ppm (2H, d,  $J=8,8$  Hz), 7,42 ppm (2H, d,  $J=8,8$  Hz), 7,37 – 7,39 ppm (2H, m), 7,24 – 7,29 ppm (3H, m); RMN de  $^{31}\text{P}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta_{\text{P}} = -19,31$  ppm; ESI-MS modo íon-positivo:  $m/z$  (%): calculado para  $\text{C}_{18}\text{H}_{15}\text{NO}_6\text{P}^+$ : 372,0637; encontrado: 372,0632 (100)  $[M]^+$ .

### 3.3.4.3. Preparação dos triésteres di-trifluoretil aril fosfatos.

#### di-trifluoretil-4-nitrofenil fosfato (**42**):

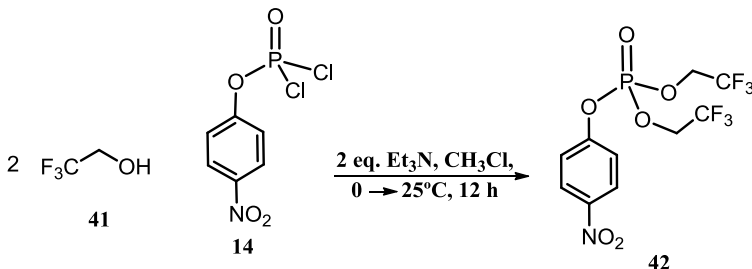
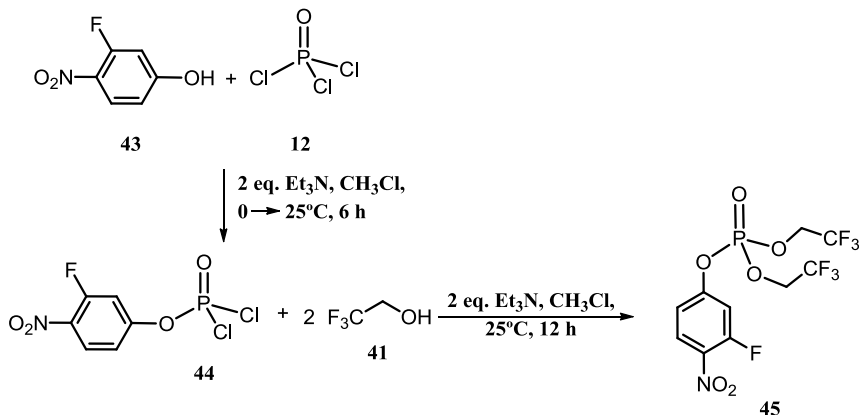
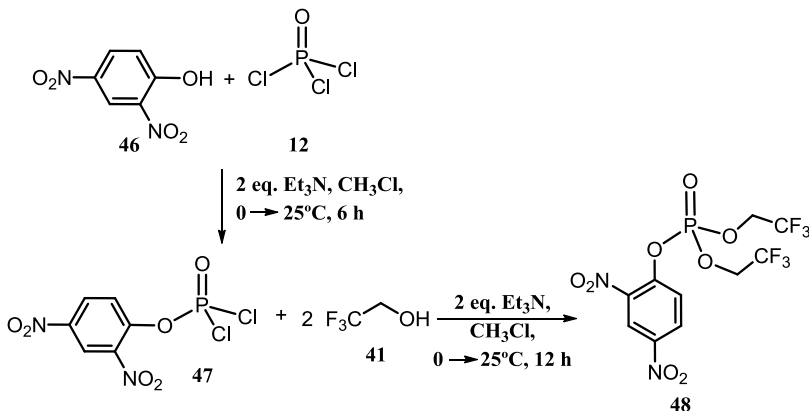


Figura 24: Síntese do triéster **42**.

Adicionou-se, gota a gota, uma solução de trifluoretanol **41** (0,78 g, 7,81 mmol) e trietilamina (0,79 g, 7,81 mmol) em  $\text{CHCl}_3$  à uma solução resfriada em banho de gelo de **14** (4-nitrofenil diclorofosfato) (1 g, 3,91 mmol) em  $\text{CHCl}_3$  seco. Manteve-se agitação magnética à  $0^\circ\text{C}$  por 15 minutos e, posteriormente, por mais 12 horas (*overnight*) à temperatura ambiente. Após esse período, a mistura reacional foi lavada com soluções saturadas de  $\text{NaHCO}_3$  e  $\text{NaCl}$ , seca com  $\text{MgSO}_4$  anidro e evaporada à pressão reduzida. Obteve-se 1,22 g (82% de rendimento) do produto desejado **42**. RMN de  $^1\text{H}$  (250 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta_{\text{H}} = 8,30$  ppm (2H, d,  $J=9,9$  Hz), 7,40 ppm (2H, d,  $J=9,9$  Hz), 4,46 – 4,60 ppm (4H, m,  $-\text{CH}_2-$ ); RMN de  $^{19}\text{F}$  (235 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta_{\text{F}} = -75,33$  ppm ( $-\text{CF}_3$ , s); RMN de  $^{31}\text{P}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta_{\text{P}} = -7,88$  ppm; ESI-MS modo íon-positivo:  $m/z$  (%): calculado para  $\text{C}_{10}\text{H}_9\text{NO}_6\text{F}_6\text{P}^+$ : 384,0072; encontrado: 384,0077 (100)  $[M]^+$ .

**di-trifluoretil-3-flúor-4-nitrofenil fosfato (45):**Esquema 14: Síntese do triéster **45**.

Adicionou-se, gota a gota, uma solução de 3-flúor-4-dinitrofenol **43** (1 g, 6,37 mmol) e trietilamina (0,64 g, 6,37 mmol) em CHCl<sub>3</sub> à uma solução resfriada em banho de gelo de POCl<sub>3</sub> (0,98 g, 6,37 mmol) em CHCl<sub>3</sub> seco. Manteve-se agitação magnética a 0°C por 1 hora e, posteriormente, por mais 5 horas à temperatura ambiente. Após esse período, adicionou-se, gota a gota, 2 equivalentes de trifluoretanol **41** (1,27 g, 12,74 mmol) e trietilamina (1,29 g, 12,74 mmol) dissolvidos em CHCl<sub>3</sub>, mantendo-se agitação magnética por mais 12 horas (*overnight*) à temperatura ambiente. Em seguida, a mistura reacional foi lavada com soluções saturadas de NaHCO<sub>3</sub> e NaCl, seca com MgSO<sub>4</sub> anidro e evaporada à pressão reduzida. Obteve-se 0,64 g (25% de rendimento) do produto desejado **45** após purificação por cromatografia em coluna (silica gel, metanol 3% / trietilamina 0,5% / clorofórmio. RMN de <sup>1</sup>H (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ<sub>H</sub>= 8,18 ppm (1H, t), 7,18 – 7,28 ppm (2H, m), 4,41 – 4,60 ppm (4H, m, –CH<sub>2</sub>–); RMN de <sup>19</sup>F (235 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ<sub>F</sub>= –75,29 ppm (s, –CF<sub>3</sub>), –112 ppm (s, Ar–F); RMN de <sup>31</sup>P (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ<sub>P</sub>= –8,26 ppm; ESI-MS modo íon-positivo: m/z (%): calculado para C<sub>10</sub>H<sub>8</sub>NO<sub>6</sub>F<sub>7</sub>P<sup>+</sup>: 401,9977; encontrado: 401,9984 (100) [M]<sup>+</sup>.

**di-trifluoretil-2,4-dinitrofenil fosfato (48):**Esquema 15: Síntese do triéster **48**.

Adicionou-se, gota a gota, uma solução de 2,4-dinitrofenol **46** (2 g, 10,86 mmol) e trietilamina (1,1 g, 10,86 mmol) em CHCl<sub>3</sub> à uma solução resfriada em banho de gelo de **12** (POCl<sub>3</sub>) (1,67 g, 10,86 mmol) em CHCl<sub>3</sub> seco. Manteve-se agitação magnética a 0°C por 1 hora e, posteriormente, por mais 5 horas à temperatura ambiente. A mistura reacional foi resfriada, seguida de adição, gota a gota, de 2 equivalentes de trifluoretanol (2,17 g, 21,72 mmol) e trietilamina (2,2 g, 21,72 mmol) dissolvidos em CHCl<sub>3</sub>. Manteve-se agitação magnética por 12 horas (*overnight*) à temperatura ambiente, período após o qual a mistura reacional foi lavada com solução saturada de NaCl, seca com MgSO<sub>4</sub> anidro e removido o solvente à pressão reduzida. O resíduo obtido foi purificado por cromatografia em coluna (sílica gel, acetato de etila 30% / éter de petróleo). RMN de <sup>1</sup>H (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ<sub>H</sub>= 8,95 ppm (1H, dd), 8,56 ppm (1H, dd), 7,8 ppm (1H, d, J=25,5 Hz), 4,54 – 4,66 ppm (4H, m, –CH<sub>2</sub>–); RMN de <sup>19</sup>F (235 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ<sub>F</sub>= –75,29 ppm (–CF<sub>3</sub>, s); RMN de <sup>31</sup>P (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ<sub>P</sub>= –7,24 ppm; ESI-MS modo íon-positivo: m/z (%): calculado para C<sub>10</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>F<sub>6</sub>P<sup>+</sup>: 428,9922; encontrado: 428,9909 (100) [M]<sup>+</sup>.

### di-trifluoretil-4-clorofenil fosfato (49):

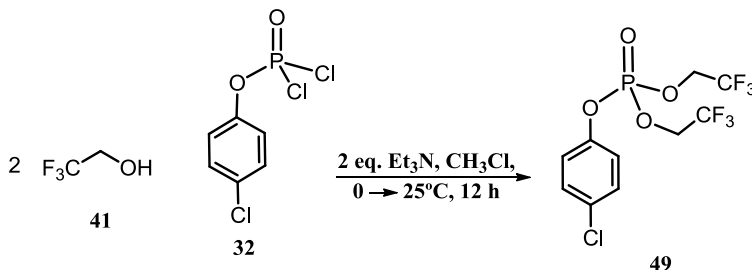


Figura 25: Síntese do triéster **49**.

Adicionou-se, gota a gota, uma solução de trifluoretanol **39** (0,81 g, 8,15 mmol) e trietilamina (0,82 g, 8,15 mmol) em CHCl<sub>3</sub> à uma solução gelada de **32** (4-clorofenil diclorofosfato) (1 g, 4,07 mmol) em CHCl<sub>3</sub> seco. Manteve-se agitação magnética a 0°C por 15 minutos e, posteriormente, por mais 12 horas à temperatura ambiente (*overnight*). A mistura reacional foi lavada com soluções saturadas de NaHCO<sub>3</sub> e NaCl, seca com MgSO<sub>4</sub> anidro e evaporada à pressão reduzida para fornecer 1,44 g (95% de rendimento) do produto desejado **49**. RMN de <sup>1</sup>H (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ<sub>H</sub>= 7,37 ppm (2H, d, J=8,7 Hz), 7,18 ppm (2H, d, J=8,7 Hz), 4,41 – 4,55 ppm (4H, m, –CH<sub>2</sub>–); RMN de <sup>19</sup>F (235 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ<sub>F</sub>= –75,31 ppm (–CF<sub>3</sub>, s); RMN de <sup>31</sup>P (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ<sub>P</sub>= –7,43 ppm; ESI-MS modo íon-positivo: m/z (%): calculado para C<sub>10</sub>H<sub>9</sub>O<sub>4</sub>F<sub>6</sub>ClP<sup>+</sup>: 372,9831; encontrado: 372,9822 (100) [M]<sup>+</sup>.

### 3.4. Métodos cinéticos

As reações foram iniciadas pela adição de 10 ou 30 μL de solução estoque do substrato (5 x 10<sup>-3</sup> M: solvente acetonitrila ou dioxano – para os compostos contendo os grupos CF<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>O– e aqueles estudados em 30% dioxano) à soluções aquosas tamponadas (1 ou 3 mL) no pH desejado. Os estudos cinéticos foram acompanhados à temperatura e força iônica (1,0 M – KCl ou NaCl) constantes por, pelos menos, 5 tempos de meia vida. As reações foram monitoradas pelo aparecimento dos grupos de saída em seus respectivos comprimentos de onda (2-piridona em 294 nm, 2,4-dinitrofenolato em 360 nm, 4-clorofenolato em 300 nm, 4-nitro e 3-flúor-4-nitrofenolato em 400 nm e 320 nm para a forma ácida), utilizando o espectrofotômetro Varian equipado com celas termostatizadas. Os parâmetros de ativação foram



calculados utilizando a equação de Eyring, a partir das constantes de velocidade obtidas na faixa entre 25 e 55°C. Mediu-se o pH da solução ao final de cada corrida utilizando um pH-metro Hanna modelo pH 200. As constantes de velocidade de primeira ordem observadas ( $k_{\text{obs}}$ ) foram calculadas pelo método não-linear dos mínimos quadrados da variação da absorvância *versus* tempo: Os coeficientes de correlação obtidos foram  $> 0,998$ . Os tampões usados foram HCl (pH  $< 2$ ), ácido cloroacético/cloroacetato de potássio (pH 2,0–3,5), ácido fórmico/formiato de potássio (pH 3,0–4,0), ácido acético/acetato de potássio (pH 4,0–5,5), fosfato (pH 5,5–7,0), MES (pH 5–7), HEPPS e N-metil morfolina (NMM) (pH 7–8), bis-TRIS (pH 7,0–9,0), borato (pH 8,0–9,0) e CAPS (pH 10–11).

### 3.4.1. Parâmetros de ativação (termodinâmicos)

Os valores de  $\Delta H^\ddagger$ ,  $\Delta S^\ddagger$  e  $\Delta G^\ddagger$  foram obtidos, experimentalmente, a partir dos dados de  $k_{\text{obs}}$  acompanhando-se a reação de hidrólise dos triésteres a 25, 35, 45 e 55°C.

### 3.4.2. Inventário de prótons

O experimento de inventário de prótons do composto **9** (TPyP) foi feito medindo-se as constantes de velocidade de hidrólise em misturas de D<sub>2</sub>O/H<sub>2</sub>O em diferentes frações molares. Após serem preparadas, as soluções foram mantidas por 3 horas à temperatura ambiente para permitir que os átomos de hidrogênio e deutério atingissem o equilíbrio. As reações foram realizadas em solução contendo tampão bis-tris (0,01M), pH ou pD=7,4,  $\mu=1,0\text{M}$  (KCl). O valor de pD foi corrigido a partir de  $\text{pH}_{\text{lido}} + 0,4$ .<sup>36,38</sup>

### 3.4.3. Incorporação de H<sub>2</sub><sup>18</sup>O na reação de hidrólise do triéster **9**

Iniciou-se a hidrólise do triéster **9** após adição de 20  $\mu\text{L}$  de solução estoque (50 mM do triéster em acetonitrila) à 60  $\mu\text{L}$  de uma solução tamponada com KHCO<sub>3</sub> (0,01M, pH 8,7) contendo 20  $\mu\text{L}$  de água marcada isotopicamente com <sup>18</sup>O (95%). A reação foi mantida à temperatura ambiente por 46 horas e os produtos foram analisados por ESI-MS. A abundância natural de cada produto foi obtida através da reação nas mesmas condições, mas na ausência de água marcada.



#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A seguir, serão apresentados os resultados da caracterização dos triésteres de fosfato **9**, **22**, **23**, **25a-c** e uma discussão dos seus respectivos estudos cinéticos. Em seguida, será feita uma discussão detalhada acerca das reações de hidrólise de triésteres e quais relações lineares de energia livre podem ser utilizadas para descrever a reatividade destes compostos.

##### 4.1. Preparação do triéster **9** (tri-2-piridil fosfato)

O triéster de fosfato **9** foi preparado a partir da reação entre  $\text{POCl}_3$  e 3 equivalentes de 2-piridona, utilizando clorofórmio como solvente. Utilizou-se uma base, nesse caso, a trietilamina, para converter a 2-piridona em um melhor nucleófilo e favorecer a formação do produto desejado (Figura 26). O produto foi obtido com rendimento satisfatório de 90% e caracterizado por RMN de  $^1\text{H}$ , onde é possível observar os sinais referentes aos hidrogênios do grupo 2-piridil com deslocamentos químicos distintos da 2-piridona utilizada como material de partida (Tabela 2, p.68).

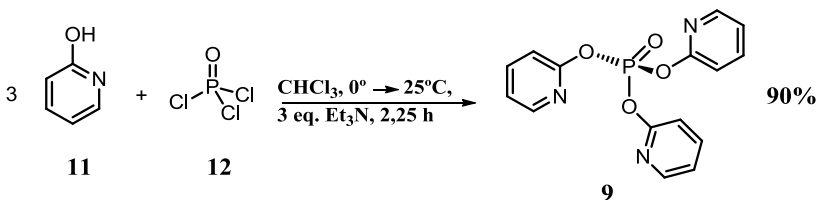


Figura 26: Obtenção do triéster **9**.

Tabela 2: Deslocamentos típicos de RMN de  $^1\text{H}$  do triéster **9**

<b>9</b>	7,14 ppm (dd, 1H. J= 7,4 e 5,4 Hz); 7,21 ppm (dd, 1H, J= 8,2 e 0,8 Hz); 7,75 ppm (ddd, 1H, J= 8,2, 7,4 e 2,0 Hz); 8,25 ppm (ddd, 1H, J= 5,4, 2,0 e 0,8 Hz)
----------	--

200 MHz, solvente:  $\text{CDCl}_3$ . Deslocamentos químicos característicos da 2-piridona:  $\delta_{\text{H}}$  (ppm): 6,61; 66,6; 7,55; 7,74 ppm.

O espectro de massa (Figura 27) mostrou o composto **9** ionizado positivamente ( $m/z$  330, 100%) e seus produtos de fragmentação  $m/z$  235 (50%) e  $m/z$  96 (35%).

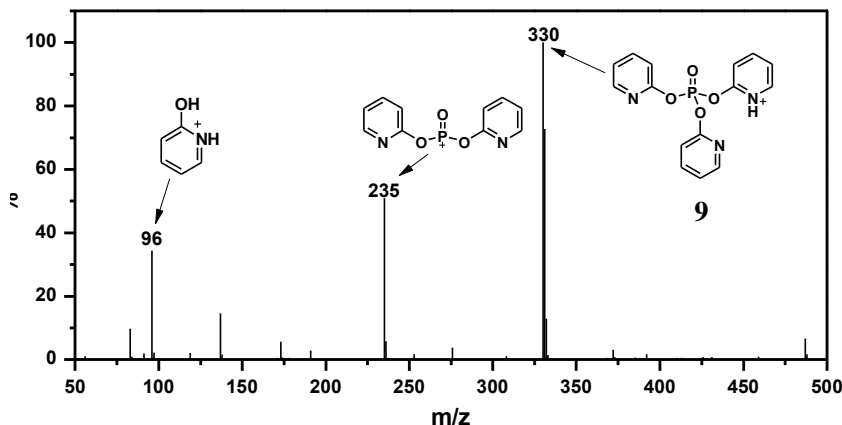


Figura 27: Espectro de massas por eletrospray (ESI-MS) do composto **9** obtido no modo positivo.

#### 4.1.1. Efeito do pH na reação de hidrólise do triéster **9** (TPyP)

A reação de hidrólise espontânea de **9** (Figura 28, p.69) foi monitorada pela formação da 2-piridona em 294 nm na região do UV-Vis.

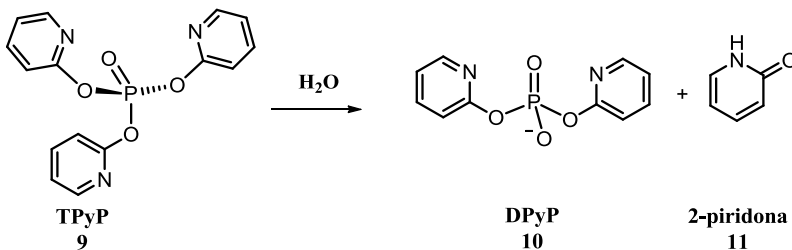


Figura 28: Reação de hidrólise espontânea do composto **9**.

Inicialmente, estudou-se a influência do pH na reação de hidrólise do composto **9**. A Figura 29 permite observar um conjunto típico de espectros sucessivos de UV-Vis para essa reação.

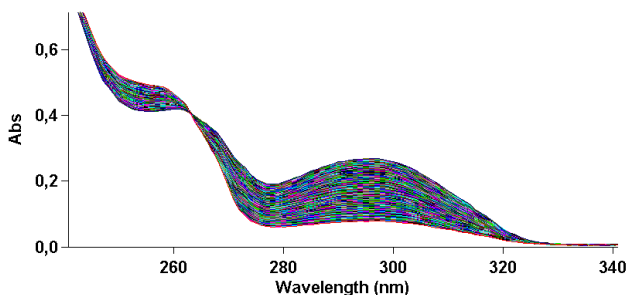


Figura 29: Espectros sucessivos de UV – Vis da reação de hidrólise espontânea do composto **9**. Temperatura: 25°C,  $\mu=1\text{M}$ .

A presença de um ponto isosbético em torno de 265 nm indica que não há reações paralelas e permite concluir que a reação de hidrólise do composto **10** (Figura 28) é muito lenta para contribuir significativamente para o valor de  $k_{\text{obs}}$ .

A partir da variação de  $\log k_{\text{obs}}$  em função do pH para a reação de hidrólise do composto **9**, obtém-se o perfil de pH para esta reação (Figura 30, p.70) onde é possível observar três regiões distintas. Na faixa de pH entre  $-1$  ( $H_0$ ) e 5, há catálise ácida enquanto que na faixa compreendida entre pH 10 e 12 ocorre catálise básica. Entre estas duas faixas de pH, há uma região independente da concentração de prótons da solução, situada entre pH 6 e 9.

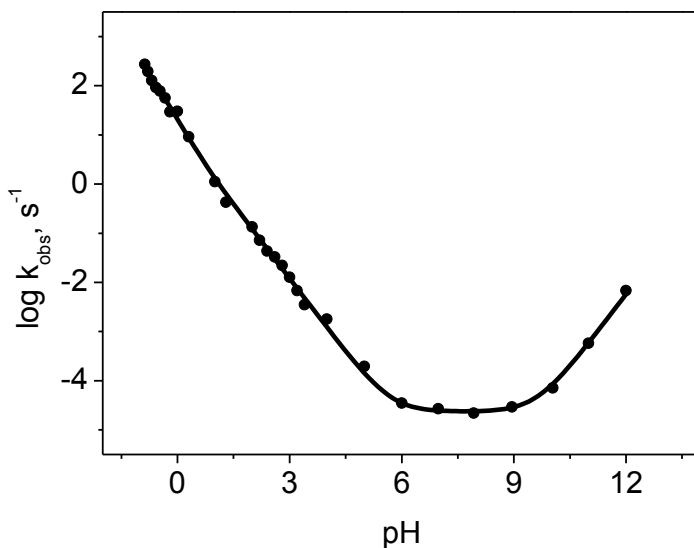
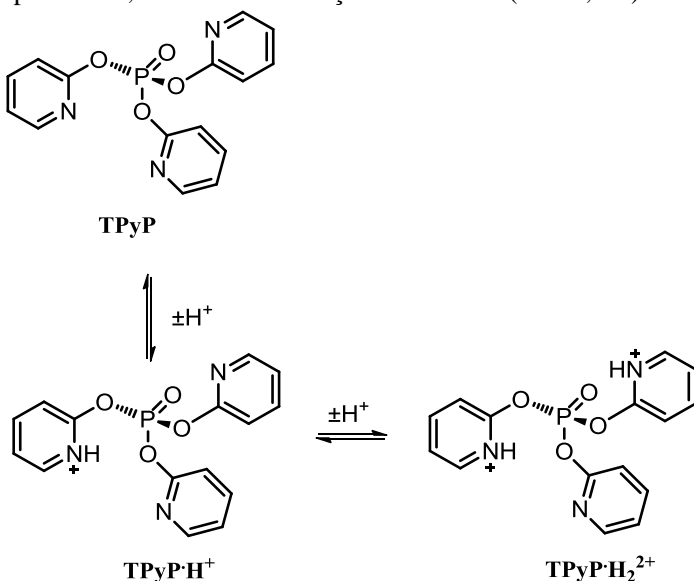


Figura 30: Variação de  $\log k_{obs}$  em função do pH para a reação de hidrólise do composto **9**. Temperatura: 25°C,  $\mu=1M$ .

Entretanto, de acordo com a correlação de Khan e Kirby,<sup>13</sup> não seria de se esperar esta região independente do pH para reações de hidrólise de triaril fosfatos. A reação de hidrólise do composto **9** foi acompanhada em condições de pseudo-primeira ordem por pelo menos cinco tempos de meia vida. Porém, de acordo com essa correlação, estas reações seriam lentas demais para serem medidas à 25°C dessa maneira. Considerando-se a presença desse patamar no perfil de pH de **9**, concluiu-se que a reação de hidrólise neutra do mesmo era muito mais rápida do que o esperado para um triéster de fosfato com grupo de saída de mesmo  $pK_a$  que a 2-piridona ( $pK_a=9,1$ ). Além disso, na região ácida, o coeficiente angular aumenta progressivamente de  $-1$  até quase  $-2$  (considerando-se os últimos 2 pontos). Este comportamento é consistente com a presença de centros básicos na molécula. É de se esperar que a basicidade dos grupos 2-piridil de **9** seja menor que a da 2-metóxi-piridina, cujo  $pK_a$  é 3,2. Qualitativamente, a Figura 30 sugere que a protonação sucessiva dos átomos de nitrogênio do **9** reduz, progressivamente, a basicidade dos grupos 2-piridil. Além disso, a ausência de um patamar bem definido na região mais ácida indica que

não há protonação completa da molécula deste triéster, mesmo utilizando solução HCl 2,5M. É importante ressaltar que não foi possível completar a protonação porque, nesta concentração de ácido, o tempo de meia vida ( $t_{1/2}$ ) da reação de hidrólise do triéster **9** foi 2,5 ms, atingindo o limite do equipamento *stopped-flow* utilizado.

É possível interpretar a Figura 30 (p.70) em termos de 4 reações, de acordo com o Equação 4, onde  $k_0$  e  $k_{OH}$  correspondem às reações de hidrólise espontânea e básica, respectivamente, do **9** (**TPyP**) neutro acima de pH 6;  $k_H$  e  $k_{2H}$  correspondem às reações ácidas da espécie **9** protonada (**TPyP·H<sup>+</sup>**) abaixo de pH 5.  $\chi$  corresponde à fração molar do **TPyP·H<sup>+</sup>**. Presume-se que região ácida inclui a hidrólise da espécie **TPyP·H<sub>2</sub><sup>2+</sup>** (Esquema 16) como dito anteriormente, mas o tratamento simplificado dado na Eq. 4 se baseia no fato de que não há evidências de que a espécie **TPyP·H<sub>2</sub><sup>2+</sup>** seja formada em quantidades apreciáveis, mesmo em condições tão ácidas (HCl 2,5M).



Esquema 16: Equilíbrio entre as espécies neutra, mono e di-protonadas do triéster **9**.

$$k_{obs} = k_{OH} \cdot \chi_{TPyP} [OH^-] + k_0 \cdot \chi_{TPyP} + k_H \cdot \chi_{TPyP \cdot H^+} + k_{2H} \cdot \chi_{TPyP \cdot H^+} [H^+] \quad \text{Equação 4}$$

As constantes de velocidade de hidrólise do triéster **9** obtidas em função da variação no pH e utilizadas para construir o gráfico da Figura 30 estão listadas na Tabela 19 (Anexos, p. 135). A Tabela 3 resume os parâmetros cinéticos obtidos do ajuste da Figura 30 (p.70) utilizando a Equação 4 (p.71).

Tabela 3: Parâmetros cinéticos da reação de hidrólise do triéster **9**.

Constante	Constante de velocidade	±Desvio padrão
$k_0$	$2,35 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$	$2,76 \times 10^{-6}$
$k_{\text{OH}}$	$0,572 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$	0,075
$k_{\text{H}}$	$20,1 \text{ s}^{-1}$	17,0
$k_{2\text{H}}$	$35,3 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$	7,27
$\text{p}K_{\text{TPPH}}^+$	-0,22	0,36

Utilizando a relação linear de energia livre descrita por Khan e Kirby para a hidrólise de triésteres de fosfato,<sup>13</sup> seria possível estimar a constante de hidrólise espontânea do trifenil fosfato em  $1,5 \times 10^{-10} \text{ min}^{-1}$  a 39°C. Como o fenol tem  $\text{p}K_{\text{a}}=9,1$ , valor próximo ao da 2-piridona, era de se esperar um valor de  $k_0$  para o composto **9** semelhante ao estimado para o trifenil fosfato. No entanto, como já foi discutido anteriormente, o valor de  $k_0$  para **9** a 25°C é  $10^8$  vezes maior que o valor estimado para o trifenil fosfato. Mais adiante será discutida a validade ou não dessa afirmativa.

Considerando-se a região do patamar compreendida entre pH 6-9 (Figura 30 p.70), realizou-se estudos cinéticos para obtenção dos parâmetros termodinâmicos da reação de hidrólise de **9**.

#### 4.1.2. Parâmetros termodinâmicos e efeito isotópico do solvente na reação de hidrólise espontânea do triéster **9**

Para a obtenção dos parâmetros termodinâmicos da reação de hidrólise de **9**, as constantes de velocidade foram determinadas em diferentes temperaturas (Tabela 4, p.73). Estas constantes foram determinadas em pH 8,5, uma vez que situa-se no patamar e, portanto, refere-se à espécie neutra de **9**.



Tabela 4: constantes de velocidade de hidrólise espontânea de **9** em diferentes temperaturas

Temperatura, °C	$k_0, s^{-1}^a$
25	$2,35 \times 10^{-5}$
35	$4,82 \times 10^{-5}$
45	$9,55 \times 10^{-5}$
55	$1,88 \times 10^{-4}$

<sup>a</sup> Média de duas medidas experimentais, pH 8,5

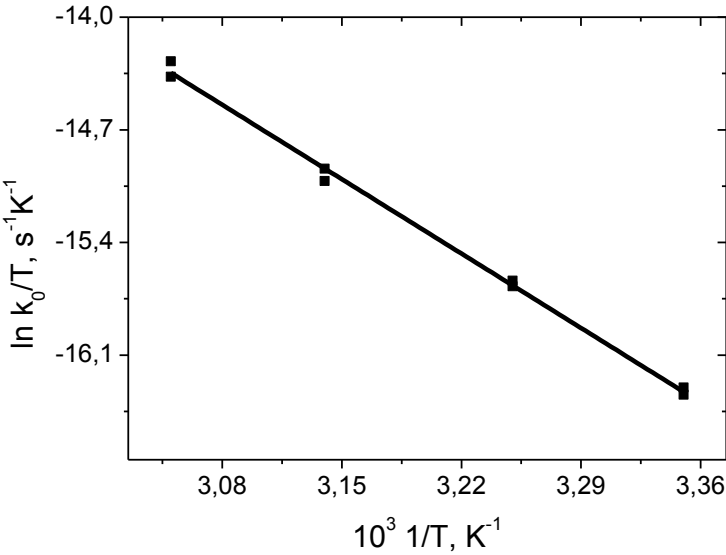


Figura 31: Variação de  $\ln k_0/T$  em função do inverso da temperatura para a reação de hidrólise do composto **9**.

Os dados da Figura 31 podem ser ajustados pela Equação do tipo de Eyring (Equação 6, p.74) onde, a partir dos coeficientes angular  $((-\Delta H^\ddagger/R) \times (1/T))$  e linear  $((k_b/\hbar) + (\Delta S^\ddagger/R))$ , é possível calcular  $\Delta H^\ddagger$  e  $\Delta S^\ddagger$  respectivamente.  $k_b$  é a constante de Boltzmann,  $\hbar$  é a constante de Planck e  $R$  é a constante dos gases. Para contornar um possível erro experimental associado ao cálculo da entropia  $\Delta S^\ddagger$  através do coeficiente

linear, calcula-se  $\Delta G^\ddagger$  através da Equação 6 para uma determinada temperatura e, uma vez obtidos os valores de  $\Delta G^\ddagger$  e  $\Delta H^\ddagger$ , é possível calcular  $\Delta S^\ddagger$  através da Equação 7.

$$\ln\left(\frac{k}{T}\right) = \ln\left[\left(\frac{k_b}{h}\right) + \left(\frac{\Delta S^\ddagger}{R}\right)\right] - \frac{\Delta H^\ddagger}{R}\left(\frac{1}{T}\right) \quad \text{Equação 5}$$

$$\Delta G^\ddagger = -RT \ln\left(\frac{k_o h}{k_b T}\right) \quad \text{Equação 6}$$

$$\Delta G^\ddagger = \Delta H^\ddagger - T\Delta S^\ddagger \quad \text{Equação 7}$$

A Tabela 5 resume os parâmetros termodinâmicos calculados para a reação de hidrólise do composto **9**. O valor de  $\Delta S^\ddagger$  bastante negativo é consistente com aqueles encontrados na literatura para as reações de hidrólise dos triésteres 4-nitrofenil difenilfosfato ( $\Delta S^\ddagger = -39$  cal. K<sup>-1</sup>. mol<sup>-1</sup>)<sup>39</sup> e do trifenil fosfato ( $\Delta S^\ddagger = -45$  cal. K<sup>-1</sup>. mol<sup>-1</sup>)<sup>40</sup> e sugerem um elevado grau de organização no estado de transição.

Quando se compara a entalpia de ativação da reação de hidrólise do **9** (Tabela 5) com a da reação de hidrólise do dialquil 2,4-dinitro-fenil fosfato **50** (Figura 32, p.75) nota-se que a entalpia de ativação da reação de hidrólise do **9** é aproximadamente 1,5 kcal/mol menor que a do triéster **50** (14,4 kcal. mol<sup>-1</sup>),<sup>13</sup> algo inesperado para o sistema estudado, pelo fato de o grupo 2,4-dinitrofenol ter pK<sub>a</sub> mais baixo (~4), portanto, ser melhor grupo de saída que a 2-piridona.

Tabela 5: Parâmetros termodinâmicos da reação de hidrólise espontânea do triéster **9**.

Parâmetros termodinâmicos	
$\Delta H^\ddagger$	13,0 kcal. mol <sup>-1</sup>
$\Delta S^\ddagger$	-36,2 cal. K <sup>-1</sup> . mol <sup>-1</sup>
$\Delta G^\ddagger$	23,8 kcal. mol <sup>-1</sup>
T = 25 – 55°C, μ=1,0M, tampão TRIS e pH 8,5	

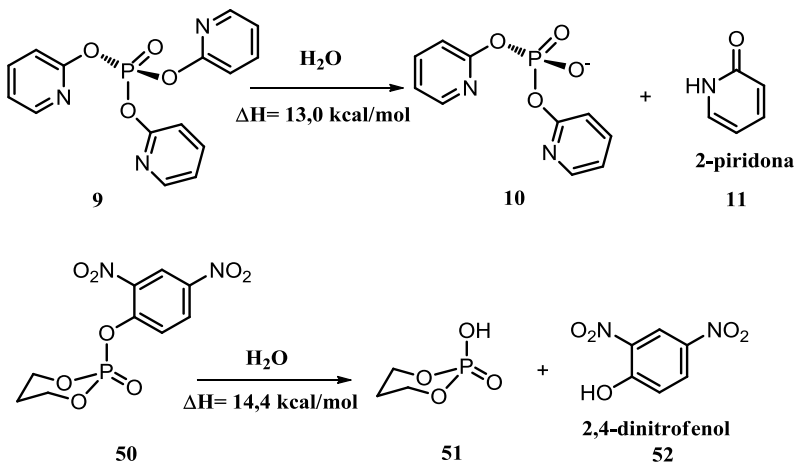
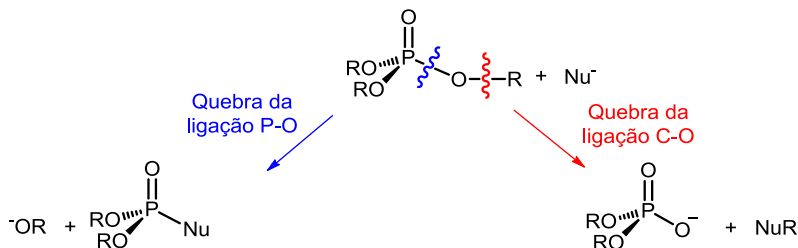


Figura 32: Comparação entre as entalpias de ativação das respectivas reações de hidrólise espontânea do triéster **9** e do dialquil 2,4 dinitrofenilfosfato **50**.<sup>13</sup>

Considerando-se que a reação de hidrólise do triéster **50** ocorre através da quebra da ligação P–O, fez-se necessário avaliar a regioseletividade da reação de hidrólise de **9**, para se determinar se a reatividade do mesmo se devia à quebra da ligação P–O ou C–O.

#### 4.1.3. Determinação da regioseletividade da reação de hidrólise do triéster **9** – Incorporação de $H_2^{18}O$

Um detalhe importante com relação às reações de hidrólise espontânea de triésteres de fosfato é a regioseletividade da mesma. Para determinar se ocorre quebra da ligação carbono-oxigênio ou fósforo-oxigênio (Esquema 17, p.76), os possíveis produtos formados podem ser analisados por espectrometria de massas.



Esquema 17: Hipótese mecanística de quebra da ligação P-O vs. C-O.

Para se verificar por qual caminho reacional ocorre a hidrólise de **9**, se é via quebra da ligação C-O ou P-O, realizou-se a reação de hidrólise utilizando  $\text{H}_2^{18}\text{O}$ .

É possível observar as espécies  $[\text{M}+2]=293$ , referente ao sal de potássio do diéster de fosfato oriundo da hidrólise do triéster **9** e a espécie  $[\text{M}+2]=255$  referente ao diéster com a espécie  $\text{H}^+$  como contra-íon. O espectro de massa da reação mostra que a incorporação do  $^{18}\text{O}$  ocorre apenas no fosfato, pois (não há quantidade significativa de 2-piridona com  $^{18}\text{O}$  incorporado à mesma, o que permite concluir que ocorre, exclusivamente, quebra da ligação P-O (Figura 33).

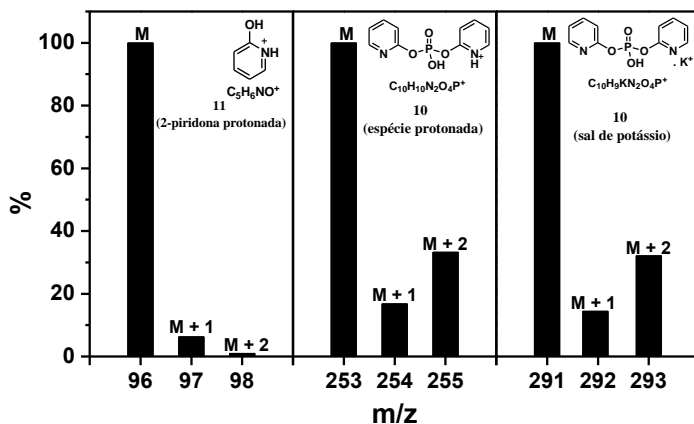
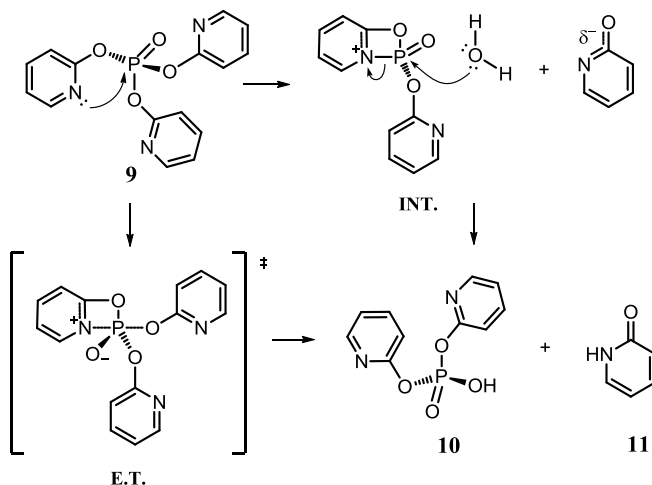


Figura 33: Incorporação de  $\text{H}_2^{18}\text{O}$ : 2-piridona protonada,  $\text{DPyP}+\text{H}^+$  e  $\text{DPyP}+\text{K}^+$  respectivamente analisados por espectrometria de massa por eletrospray.

Apesar de seguirem o mesmo caminho reacional de quebra da ligação P–O e de o composto **9** ter um grupo de saída pior que o 2,4-dinitrofenol (oriundo da reação de hidrólise do triéster **50**, Figura 32, p. 75), o composto **9** é mais reativo (possui menor entalpia de ativação).

A princípio, o único aspecto a ser considerado para estabelecer alguma relação estrutura-reatividade para o composto **9**, seria a presença dos nitrogênios dos anéis piridínicos. Átomos de nitrogênio podem se comportar como nucleófilos ou bases gerais. Além disso, quando há possibilidade de catálise nucleofílica intramolecular, esta costuma ser muito mais eficiente que a catálise básica geral.<sup>17,41</sup> Caso a catálise nucleofílica via átomo de nitrogênio fosse determinante para justificar a alta reatividade do composto **9**, deveria haver a formação de um estado de transição ou um intermediário como mostrado no Esquema 17. No entanto, é de se esperar que a barreira energética para via nucleofílica, com formação de um sistema cíclico com 4 membros, seja maior que o caminho pela catálise básica geral.

#### Caminho reacional nucleofílico



Esquema 18: Hipótese de catálise nucleofílica na molécula do triéster **9**.

Para excluir a hipótese de catálise nucleofílica pelos átomos de nitrogênio do composto **9**, realizou-se estudos de efeito isotópico do solvente para a reação de hidrólise espontânea do mesmo.

#### 4.1.4. Efeito isotópico do solvente na reação de hidrólise espontânea do triéster **9**

Nesse caso, uma maneira elegante de se verificar qual via predomina, entre catálise nucleofílica intramolecular e básica geral, é avaliar o efeito isotópico do solvente. O valor observado para  $k^H/k^D=3,15$  é coerente com um mecanismo de catálise básica geral. Se o mecanismo ocorresse via nucleofílica, esperar-se-ia um efeito isotópico menos pronunciado. Vale ressaltar que a correlação de Khan<sup>13</sup> prevê que o valor do efeito isotópico ( $k^H/k^D$ ), para a reação entre um triéster dialquil aril fosfato e piridina, via catálise nucleofílica, seja em torno de 1, enquanto que para a catálise básica geral intermolecular,  $k^H/k^D$  é previsto em torno de 2. Em se tratando de catálise básica geral intramolecular,  $k^H/k^D$  é tipicamente menor que 2.<sup>42</sup> Dito isto, poder-se-ia inferir duas possibilidades mecanísticas, cineticamente equivalentes, para a hidrólise espontânea de **9**: 1- Catálise básica geral intramolecular (IGBC) entre as espécies **9** e H<sub>2</sub>O; 2- Catálise ácida geral intramolecular (IGAC), onde a espécie **9** protonada (**TPyPH**<sup>+</sup>) transfere um próton para o íon hidróxido. Entretanto, para que ocorra a catálise geral intramolecular, seria necessária uma constante de velocidade de segunda ordem maior do que o limite controlado por difusão da reação em pH 7 (Figura 34, p.79).

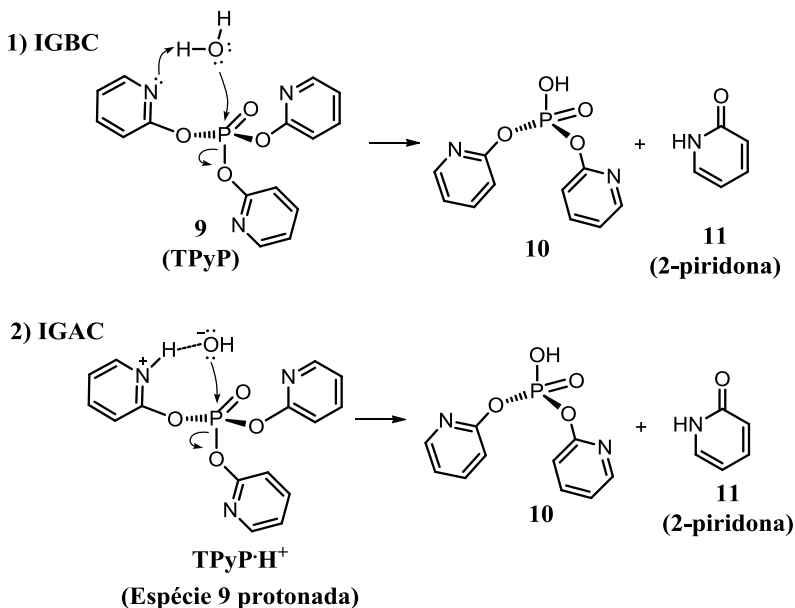


Figura 34: Hipótese cineticamente equivalente de catálise básica geral intramolecular (IGBC) e catálise ácida geral intramolecular (IGAC).

Em relação à magnitude do efeito isotópico observado, o alto valor de  $k^H/k^D$  sugere que mais de um próton está envolvido no estado de transição da etapa determinante da reação de hidrólise do triéster **9**.

Para se verificar essa hipótese, realizou-se o experimento denominado Inventário de prótons.

#### 4.1.5. Estimativa do número de prótons envolvidos no estado de transição da reação de hidrólise do triéster **9** - Inventário de prótons

O inventário de prótons é uma técnica complementar ao efeito isotópico do solvente. Com a mesma, é possível estimar quantos prótons estão envolvidos no estado de transição (E.T.). A técnica baseia-se no fato de que, para reações onde há transferência de prótons, o efeito isotópico do solvente é  $k_0/k_n$ , onde  $k_0$  é a constante de velocidade em  $H_2O$  e  $k_n$  é a constante de velocidade de hidrólise em misturas de  $H_2O/D_2O$ , de modo que o efeito isotópico observado é função de  $n$ , que

corresponde à fração de átomos de deutério na mistura.<sup>36,38</sup> Isto se deve ao fato de que nem todos os prótons que causam o efeito isotópico observado têm o mesmo ambiente que o solvente como um todo, sendo possível obter informações mecánísticas importantes acerca da reação estudada.

Realizou-se a reação de hidrólise espontânea de **9** em soluções de diferentes frações atômicas de deutério e hidrogênio. Os dados obtidos pelo inventário de prótons podem ser interpretados a partir de um gráfico de  $k_n^{obs}/k_0^{obs}$  vs fração molar de deutério ( $n$ ) (Figura 35).

Além disso, a curva obtida pode ser ajustada utilizando a equação de Gross-Butler (Equação 8), onde  $\Phi^T$  é o fator de fracionamento. Este fator corresponde à contribuição de cada próton para o estado de transição, ou seja, seu recíproco é o efeito isotópico de cada próton. No caso de haver dois prótons no estado de transição,  $\Phi^T=0,55$ ; para três prótons,  $\Phi^T=0,68$ . De qualquer maneira, considerando-se 2 ou 3 prótons no estado de transição, obtém-se ajustes com  $R^2=0,993$  e  $R^2=0,997$  respectivamente. Tais valores são estatisticamente idênticos e permitem inferir que há, pelo menos, dois ou mais prótons envolvidos na etapa determinante da reação.

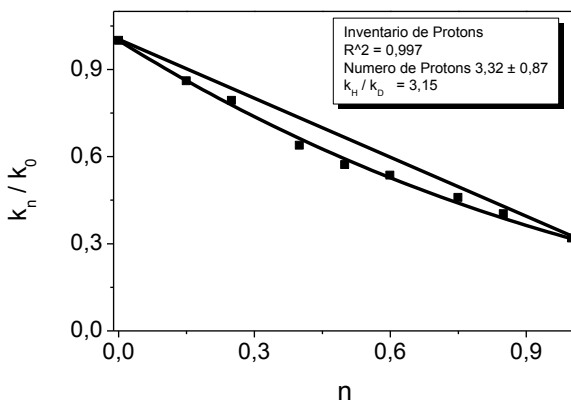


Figura 35: Variação de  $k_n/k_0$  em função de  $n$  para reação de hidrólise espontânea do triéster **9**.

$$\left(\frac{k_n^{obs}}{k_0^{obs}}\right) = \prod_i (1 - n + n\Phi_i^T)$$

Equação 8



#### 4.1.6. Identificação dos produtos da reação de hidrólise do composto **9** por RMN de $^1\text{H}$

Por fim, restava-nos realizar um estudo de RMN de  $^1\text{H}$  para identificação dos produtos da reação de hidrólise do composto **9**. Para tal, monitorou-se a reação em pH 8 a 25°C por 182 horas. Analisando a Figura 36, pode-se concluir que os produtos de hidrólise espontânea de **9** é a 2-piridona (**11**) e o diéster **10**.

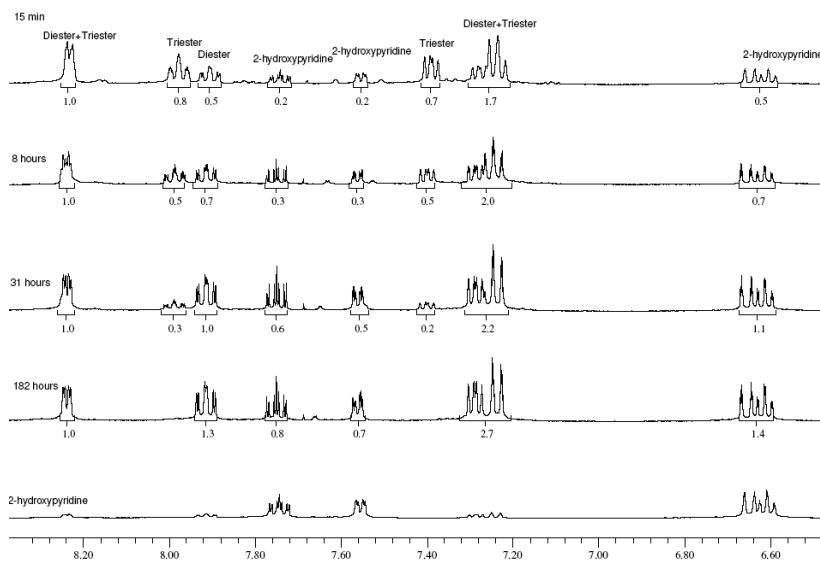


Figura 36: Espectros sucessivos de RMN de  $^1\text{H}$  da reação de hidrólise do composto **9**. 200 MHz, solvente:  $\text{D}_2\text{O}$ .

A Tabela 6 mostra os deslocamentos químicos característicos do composto **9** e respectivos produtos da reação de hidrólise **10** e **11**. Alguns deslocamentos químicos de hidrogênio de **9** e **10** se sobrepõem, mas os sinais em 6,61; 6,66; 7,55 e 7,75 ppm, referentes à 2-piridona permitem monitorar a formação da mesma sem qualquer interferência.

Tabela 6: Identificação dos produtos de hidrólise do triéster **9** por RMN de  $^1\text{H}$

<b>11</b> <b>(2-piridona)</b>	6,61 ppm (ddd, 1H. J= 7,2, 6,6 e 1,2 Hz); 6,66 ppm (ddd, 1H. J= 9,2, 1,1 e 1,1 Hz); 7,55 ppm (ddd, 1H. J= 6,6, 2,0 e 0,8 Hz); 7,74 ppm (ddd, 1H, J= 9,4, 7,4 e 2,3 Hz)
<b>9</b> <b>(TPyP)</b>	7,14 ppm (dd, 1H. J= 7,4 e 5,4 Hz); 7,21 ppm (dd, 1H, J= 8,2 e 0,8 Hz); 7,75 ppm (ddd, 1H, J= 8,2, 7,4 e 2,0 Hz); 8,25 ppm (ddd, 1H, J= 5,4, 2,0 e 0,8 Hz)
<b>10</b> <b>(DPyP)</b>	7,24 ppm (ddd, 1H. J= 8,2, 2,0 e 0,8 Hz); 7,29 ppm (ddd, 1H. J= 7,4, 5,1 e 0,8 Hz); 7,91 ppm (ddd, 1H, J= 8,2, 8,2 e 2,0 Hz); 8,24 ppm (dd, 1H, J= 5,01 e 2,0 Hz)

---

(200 MHz, D<sub>2</sub>O)

Todos os resultados citados acima levaram a concluir que os nitrogênios dos anéis piridínicos do composto **9** pudessem atuar como catalisadores catalisadores básicos gerais (Figura 37, p.83). Essa hipótese mecanística necessitaria de um posicionamento preciso dos sítios básicos (átomos de nitrogênio) e da molécula de água atuando como nucleófilo. O valor negativo de  $\Delta S^\ddagger$ , incomum para estas reações, é coerente com a proposta. O mecanismo A (Figura 37, p.83) também está em concordância com o elevado efeito isotópico observado.

Se a proposta mecanística de catálise básica geral intramolecular bifuncional (Figura 37, p.83, mecanismo A) fosse capaz de explicar a alta reatividade de **9**, apesar de seu grupo de saída ser, relativamente, ruim ( $pK_a=9,1$ ), a mesma explicaria muito bem a hidrólise da espécie **9** protonada, onde o grupo de saída seria a 2-piridona neutra (Figura 37, p.83, mecanismo B).

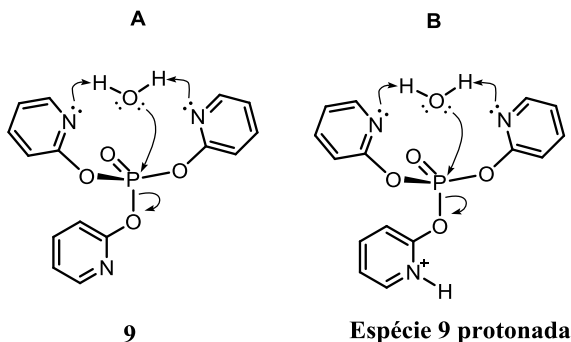
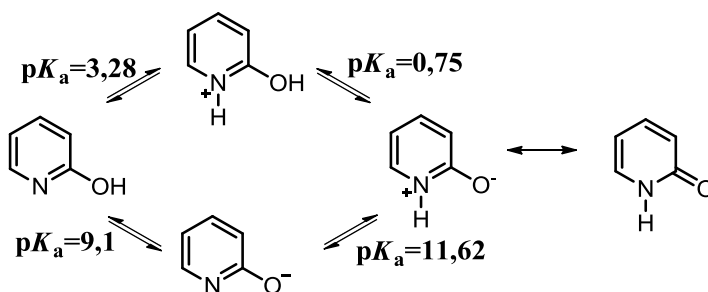


Figura 37: Possibilidades de catálise básica.

Devido à protonação do nitrogênio, o grupo de saída é muito melhor, pois o  $pK_a$  do mesmo diminui muitas ordens de magnitude (de 9,1 para 0,75; Esquema 19),<sup>43</sup> justificando o aumento da velocidade em pHs baixos. Adicionalmente, a protonação dos nitrogênios aumenta a eletrofilicidade do átomo de fósforo, fato este que resulta no aumento da reatividade do triéster **9** frente à reação de hidrólise.



Esquema 19: Equilíbrio envolvendo a 2-piridona.

Diante das evidências cinéticas acima, poder-se-ia justificar a alta reatividade do triéster **9** em função dos nitrogênios capazes de atuar como catalisador básico geral intramolecular. Além disso, é importante salientar que, de acordo com a correlação de Khan,<sup>13</sup> esta reatividade elevada, até então inédita para um triéster de fosfato, deveria ser inerente ao triéster **9** e, conseqüentemente, ausente em outros triésteres

de fosfato. Para verificar se esta hipótese estava correta, ou seja, se a reatividade aumentada do composto **9** estava relacionada à presença dos nitrogênios da piridina, preparou-se a série de triésteres **25a-c**, onde todos são triarílicos, derivados dos fenóis 3-nitrofenol (**24a**), 4-nitrofenol (**24b**) e 3-clorofenol (**24c**). Além disso, o triéster **25c** possui grupo de saída com  $pK_a$  9,02, semelhante ao da 2-piridona, mas nenhuma funcionalidade adicional que possa aumentar a reatividade do respectivo triéster. A seguir, serão discutidos os resultados obtidos para esta série de triésteres.

## 4.2. Preparação de triésteres de fosfato com grupos arila iguais

Os triésteres de fosfato simétricos **25a**, **25b** e **25c** derivados do 3-nitrofenol, 4-nitrofenol e 3-clorofenol, respectivamente, foram preparados através de procedimento análogo ao utilizado para o triéster **9**, utilizando 3 equivalentes do fenol correspondente e  $\text{POCl}_3$ , previamente destilado (Figura 38). As reações foram feitas utilizando clorofórmio como solvente e trietilamina como base para converter os fenóis em espécies mais reativas. Os produtos **25a** e **25b** foram caracterizados por seus respectivos pontos de fusão. O triéster **25c** foi caracterizado por RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{31}\text{P}$ .

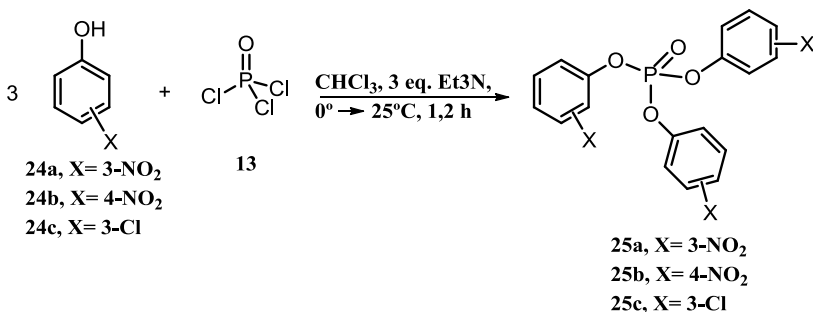


Figura 38: Preparação de triésteres de fosfatos simétricos triarílicos.

#### 4.2.1. Efeito do pH nas reações de hidrólise de ésteres de fosfato triarílicos (ArO)<sub>3</sub>P=O

Os triésteres **25a-c** apresentaram baixa solubilidade em água. Dessa maneira, foi necessário realizar as reações de hidrólise em diferentes concentrações de acetonitrila (Tabela 23, Anexos, p.139).

#### 4.2.2. Efeito do pH na reação de hidrólise do triéster **25a**

A influência do pH na reação de hidrólise espontânea do triéster **25a** foi obtido em mistura 30% acetonitrila/água e ajustado através da Equação 10 (Figura 39).

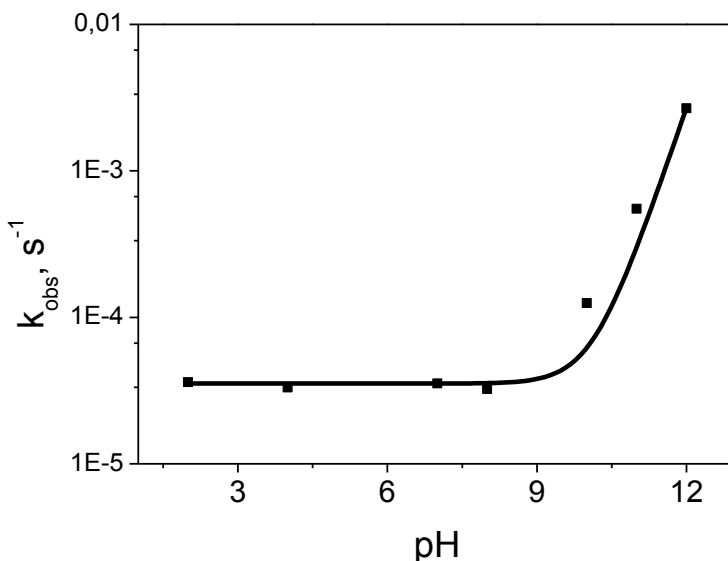


Figura 39: Variação de  $k_{obs}$  em função do pH na reação de hidrólise do triéster **25a** em mistura de 30% acetonitrila:água, 25°C.

$$k_{obs} = k_0 + k_{OH}[OH^-] \quad \text{Equação 9}$$

Os dados cinéticos obtidos para o triéster **25b** estão de acordo com a literatura.<sup>44</sup> Em geral, as concentrações utilizadas na cinética são da ordem de 10<sup>-5</sup> M, mas em relação ao triéster **25c**, o coeficiente de

absortividade molar ( $\epsilon$ ) do 3-cloro-fenol é muito baixo, sendo necessário maior concentração do triéster para se acompanhar a reação por UV-Vis. No entanto, quando se utilizou maior quantidade do triéster **25c**, ocorreu precipitação.

#### 4.2.3. Determinação de $k_0$ das reações de hidrólise de ésteres de fosfato triarílicos simétricos ( $\text{ArO})_3\text{P=O}$

Como citado anteriormente, os triésteres **25a-c** apresentaram pouca solubilidade em água a 25°C, de modo que a determinação de  $k_{\text{obs}}$  para cada triéster foi feita por extrapolação a partir da determinação de das constantes de hidrólise em misturas de acetonitrila:água em diferentes concentrações (Tabela 7).

Tabela 7: Constantes de velocidade para a hidrólise espontânea de triaril fosfatos simétricos em acetonitrila aquosa.<sup>a</sup>

	<b>25a</b>	<b>25b</b>	<b>25c</b>
$\text{CH}_3\text{CN}\%$	$k_{\text{obs}} (\text{s}^{-1})$	$k_{\text{obs}} (\text{s}^{-1})$	$k_{\text{obs}} (\text{s}^{-1})$
( <i>Extrapolação para</i> ) 0% <sup>b</sup>	$1,56 \pm 0,11 \times 10^{-4}$	$1,62 \pm 0,14 \times 10^{-3}$	$1,93 \pm 0,24 \times 10^{-5}$
5	$1,13 \times 10^{-4}$	$1,27 \times 10^{-3}$	-----
10	$1,04 \times 10^{-4}$	$8,59 \times 10^{-4}$	-----
12,5	-----	-----	$1,18 \times 10^{-5}$
20	$6,23 \times 10^{-5}$	$6,99 \times 10^{-4}$	$6,99 \times 10^{-4}$
30	$3,53 \times 10^{-5}$	$3,47 \times 10^{-4}$	$6,84 \times 10^{-6}$
40	$2,01 \times 10^{-5}$	$2,07 \times 10^{-4}$	$3,95 \times 10^{-6}$
50	$1,46 \times 10^{-5}$	$1,28 \times 10^{-4}$	$3,02 \times 10^{-6}$

<sup>a</sup> Condições: 0,01M tampão bis-tris, T=25°C e pH 7,0. <sup>b</sup> Extrapolação linear para 0% de  $\text{CH}_3\text{CN}$  baseada nos gráficos de  $\log k_{\text{obs}}$ .

A partir dos dados da Tabela 7, é possível obter a Figura 40 (p.87), onde os coeficientes lineares dos ajustes correspondem às

constantes de velocidade de hidrólise  $k_{\text{obs}}$  dos triésteres **25b** ( $1,62 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ ), **25a** ( $1,56 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ ) e **25c** ( $1,93 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ ) extrapoladas para 0% de acetonitrila. Surpreendentemente, essas constantes de velocidade são muito elevadas, sendo  $k_0$  do triéster **25c** ( $1,93 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ ) muito semelhante à do triéster **9** ( $2,35 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ ).<sup>ii</sup>

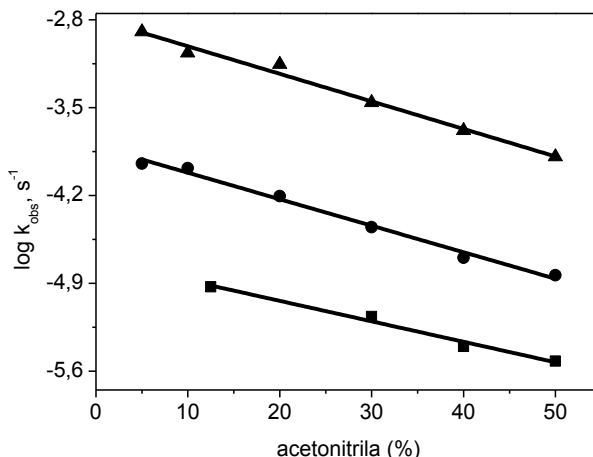


Figura 40: Variação do  $\log k_{\text{obs}}$  em função da porcentagem de acetonitrila para as reações de hidrólise dos triésteres **25c** ( $\blacksquare$ ), **25b** ( $\bullet$ ) e **25a**, 25°C.

#### 4.3. Preparação do dietil-2-piridilfosfato (**22**)

O triéster **22** foi sintetizado de maneira análoga aos triésteres de fosfato citados anteriormente, porém, utilizando-se dicloro-dietilfosfato (obtido comercialmente) ao invés de cloreto de fosforila (Figura 41, p.90) em bom rendimento (80%) sob a forma de um óleo amarelo. O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  mostrou os sinais típicos dos grupos etila em 4,31 ppm, onde os sinais do  $\text{OCH}_2\text{CH}_3$  apresentaram-se sob a forma de um duplo quarteto devido ao acoplamento dos hidrogênios com o átomo de fósforo (Figura 45, p.93) ( $J_{3(\text{H-P})} = 8,5 \text{ Hz}$ ). De maneira análoga, os hidrogênios da metila apresentaram-se sob a forma de um duplo triplete ( $J_{4(\text{H-P})} = 1,1 \text{ Hz}$ ).

<sup>ii</sup> Mais adiante será discutido sobre a correção desse valor devido à catálise por tampão.

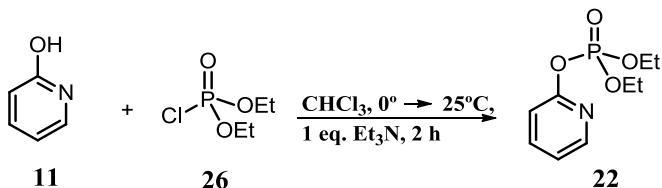


Figura 41: Preparação do dietil-2-piridilfosfato (**22**).

#### 4.3.1. Influência do pH na reação de hidrólise do triéster **22**

O triéster **22** mostrou-se menos reativo que os demais triésteres de fosfato estudados neste trabalho. Para se obter estimativas confiáveis das reações mais lentas, em torno de pH 7, as constantes de velocidade foram medidas a 25, 45 e 55°C. A Figura 42 mostra o gráfico de  $\log k_{\text{obs}}$  em função do pH obtido para a reação de hidrólise espontânea do triéster **22** a 45°C. Em torno de pH 7, os valores das constantes, foram obtidos pelo método de velocidades iniciais.

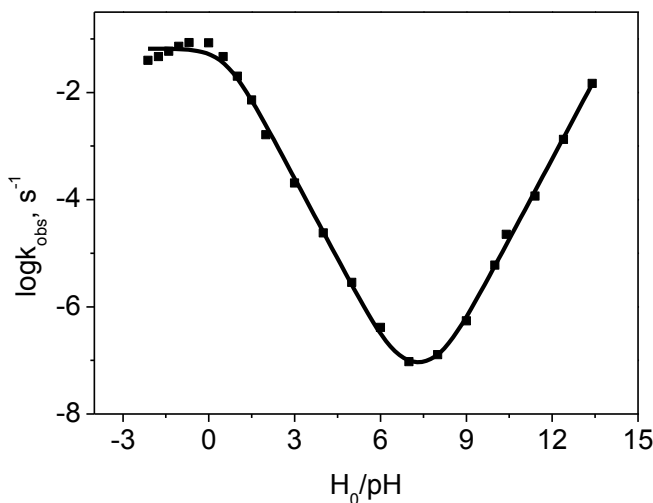


Figura 42: Variação do  $\log k_{\text{obs}}$  em função do pH para a reação de hidrólise do triéster **22**, 45°C.

Na Tabela 8 (p.89) estão listados os dados cinéticos obtidos a partir do ajuste da Figura 42 utilizando a Equação 10 (p.89) onde



$\chi_{DEPyP}$  corresponde à fração molar do triéster **22** (DEPyP) neutro e  $\chi_{DEPyP.H^+}$  corresponde à fração molar do triéster **22** (DEPyP) protonado.

$$\log k_{obs} = \log k_0 \chi_{DEPyP} + \log k_{OH} \chi_{DEPyP} [OH] + \log k_H \chi_{DEPyP.H^+} \quad \text{Equação 10}$$

Tabela 8: Dados cinéticos obtidos a partir do ajuste do gráfico de  $\log k_{obs}$  em função do pH para a hidrólise do triéster **22**.

Dados cinéticos	
$k_0$	$6,91 \times 10^{-8} \text{ s}^{-1}$
$k_{OH}$	$5,73 \times 10^{-2} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$
$k_H$	$6,59 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$
pK	0,58

T=45°C,  $\mu=1,0 \text{ M}$ .

Vale ressaltar que os triésteres **22** e **9** possuem mesmo grupo de saída, 2-piridona. No entanto, o triéster **22** mostrou-se cerca de 300 vezes menos reativo ( $6,91 \times 10^{-8} \text{ s}^{-1}$ ) que o triéster **9** ( $2,35 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ ). Para se compreender as diferenças na reatividade destes dois triésteres, realizou-se a determinação dos parâmetros termodinâmicos da reação de hidrólise do triéster **22**. Devido à ausência de um patamar em torno de pH 7, onde o grupo 2-piridil do triéster **22** encontra-se protonado, optou-se por calcular os parâmetros termodinâmicos no patamar em torno de pH 0.

#### 4.3.2. Determinação dos parâmetros termodinâmicos da reação de hidrólise espontânea do triéster **22** protonado (DEPyP.H<sup>+</sup>)

Os parâmetros termodinâmicos foram obtidos a partir das constantes de velocidade das reações de hidrólise da espécie protonada do triéster **22** entre 25 e 55°C e pH 0 (Tabela 9, p.90) na região do patamar.

Tabela 9: Constantes de velocidade observadas para a hidrólise do triéster **22** protonado.

Temperatura, °C	$10^2 k_{\text{obs}}, \text{s}^{-1}$
25	2,52
35	4,76
45	8,42
55	14,4

pH 0

A partir destes dados é possível construir o gráfico de  $\ln k_{\text{obs}}/T$  em função do inverso da temperatura (Figura 43).

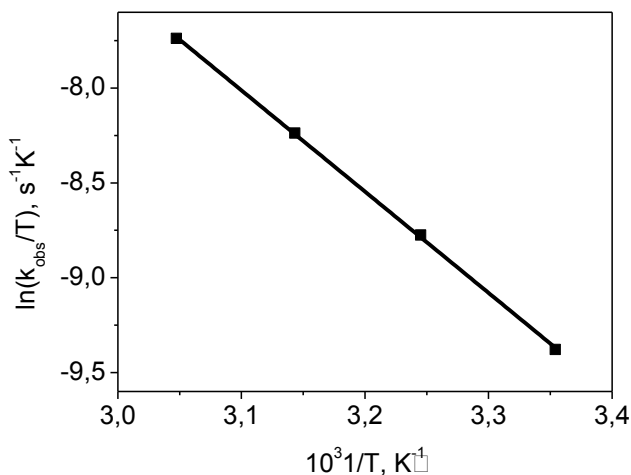


Figura 43: Variação de  $\ln(k_{\text{obs}}/T)$  vs  $T^{-1}$  para a reação de hidrólise do triéster **22** protonado, pH 0.

De maneira análoga ao triéster **9**, a Figura 43 pode ser ajustada através da equação de Eyring e os dados termodinâmicos obtidos estão na Tabela 10 (p.91).

Tabela 10: Parâmetros termodinâmicos do triéster **22** protonado obtidos a partir do gráfico de  $\ln k_{\text{obs}}/T$  em função do inverso da temperatura.

Parâmetros termodinâmicos	
$\Delta G^\ddagger$	19,6 Kcal mol <sup>-1</sup>
$\Delta H^\ddagger$	10,6 Kcal mol <sup>-1</sup>
$\Delta S^\ddagger$	-30,2 cal K <sup>-1</sup> mol <sup>-1</sup>

O fato de apresentar uma entalpia de ativação ( $\Delta H^\ddagger=10,6$  Kcal mol<sup>-1</sup>) menor que a do triéster **9** ( $\Delta H^\ddagger=13,0$  Kcal mol<sup>-1</sup>) é coerente com o fato de o grupo 2-piridil do triéster **22** estar protonado, comportando-se como melhor grupo de saída que a espécie neutra.

Para se determinar a regioselectividade da reação de hidrólise do triéster **22**, considerando-se que poderia haver tanto quebra da ligação C – O quanto P – O, realizou-se um estudo para identificação dos produtos da reação de hidrólise por RMN de <sup>1</sup>H.

#### 4.3.3. Identificação de produtos por RMN de <sup>1</sup>H da hidrólise do triéster **22**

A hidrólise espontânea do trietil fosfato (a 101°C) ocorre com 100% de quebra da ligação H<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>C–O, sendo  $k_0=8,35 \times 10^{-6}$  s<sup>-1</sup> e  $\Delta H^\ddagger=23,4$  Kcal.mol<sup>-1</sup>.<sup>45</sup> A equação 14, onde R é a constante universal dos gases e T a temperatura (nesse caso, 101°C), permite calcular a energia de ativação (E<sub>a</sub>) dessa reação. De posse dessa E<sub>a</sub>, é possível prever as constantes de velocidade de hidrólise do triéster **22** a 25 e 45°C, sendo elas  $2,3 \times 10^{-9}$  e  $3,0 \times 10^{-8}$  s<sup>-1</sup>, respectivamente, utilizando a equação de Arrhenius (Equação 11).

$$E_a = \Delta H^\ddagger + RT \quad \text{Equação 11}$$

$$\ln \frac{k_2}{k_1} = -\frac{E_a}{R} \left( \frac{1}{T_2} - \frac{1}{T_1} \right) \quad \text{Equação 12}$$

Na prática, as constantes de velocidade de hidrólise do triéster **22** observadas nessas condições são entre 2 e 7 vezes mais rápidas que esses valores, fato que é concordante com a quebra da ligação H<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>C–O envolvendo um grupo de saída alquil-aril fosfato melhor. Para se verificar esta hipótese, a reação de hidrólise do triéster **22** foi monitorada por RMN de <sup>1</sup>H em pD 2 e a 25°C (Figuras 44, p.92 e 45, p.93).

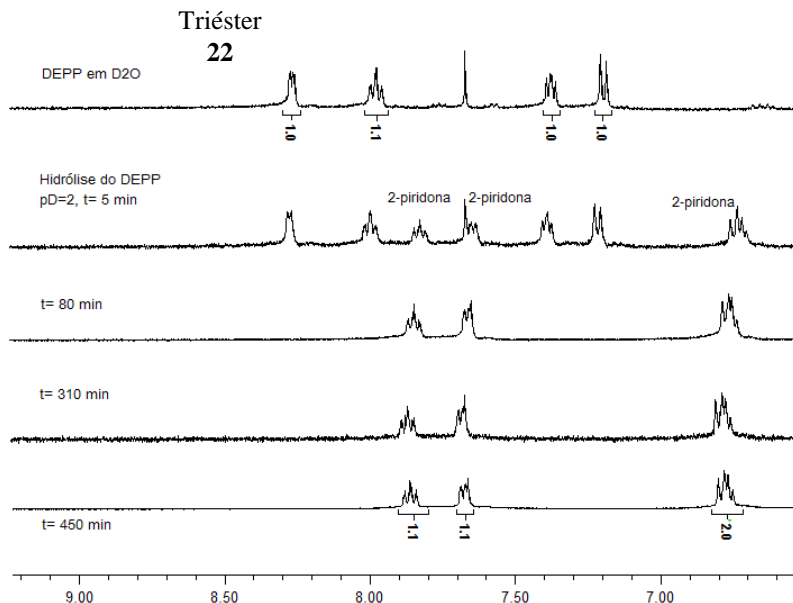


Figura 44: Espectros sucessivos de RMN de  $^1\text{H}$  da região aromática durante a hidrólise do triéster **22** em pD 2 (200 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ).

A Figura 44 mostra a região dos hidrogênios aromáticos (compreendida entre 6,5 e 9,1 ppm) e evidencia a formação quantitativa de 2-piridona. Não há qualquer produto formado oriundo da quebra da ligação  $\text{H}_3\text{CH}_2\text{C}-\text{O}$ . Adicionalmente, a Figura 45 (p.93) mostra a região dos hidrogênios dos grupos OEt e evidencia a formação quantitativa de dietil fosfato. Do contrário, esperar-se-ia a presença dos sinais referentes aos hidrogênios do etanol, produto este oriundo da quebra da ligação  $\text{C}-\text{O}$ .

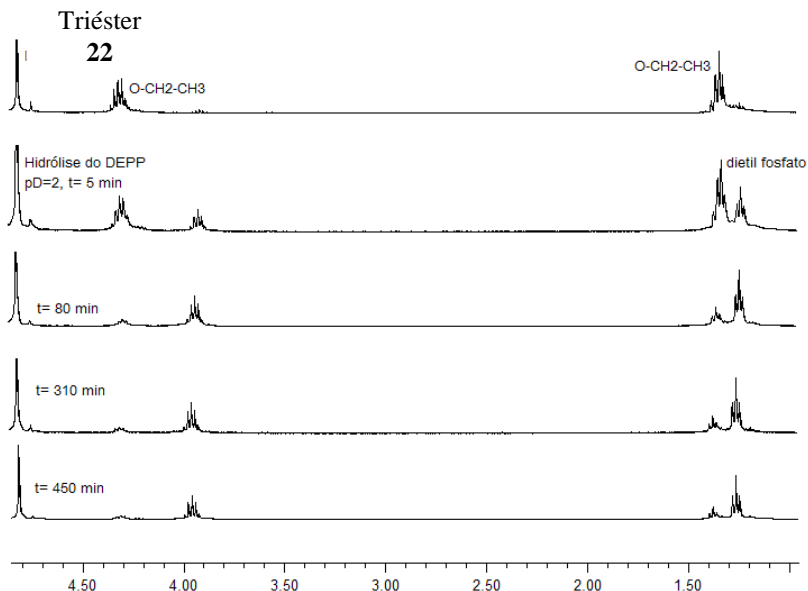


Figura 45: Espectros sucessivos de RMN de  $^1\text{H}$  (200 MHz) da região alifática durante a hidrólise do triéster **22** em pH 2 (200 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ).

Os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  mostram, inequivocamente, que os únicos produtos de hidrólise do triéster **22** são 2-piridona e dietilfosfato, oriundos da quebra da ligação P–O. A Figura 46 (p.94) compara o gráfico de  $\log k_{\text{obs}}$  em função do pH do triéster **52** (obtido da literatura) com o do triéster **22**. Considerando-se que ambos os triésteres são dialquilarilados, a reatividade dos mesmos deveria ser semelhante. No entanto, observando-se o perfil de pH do **22**, podemos concluir que no valor de pH onde a reação é mais lenta ( $\text{pH} \sim 7,5$ ), as reações  $k_{\text{H}} + k_{\text{OH}}$  são mais rápidas que  $k_0$ . Ou seja, esta última é muito lenta para contribuir significativamente para a constante observada (ou produto). Os ajustes com e sem  $k_0$  como variável independente não diferiram entre si.

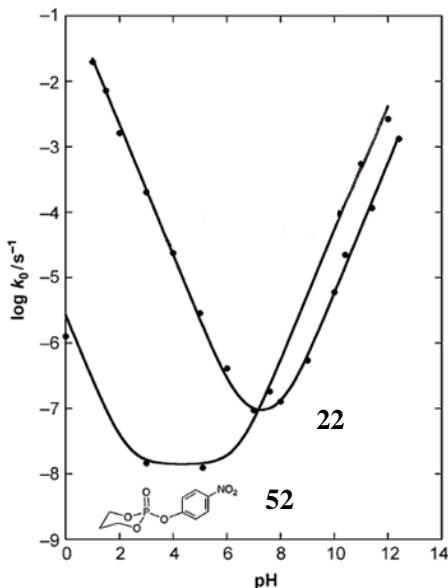


Figura 46: Comparação entre as variações de  $\log k_{\text{obs}}$  em função do pH para as reações de hidrólise espontânea do triéster **50**, 39°C<sup>13</sup> e do triéster **22**, 45°C.

O último composto a ser preparado e estudado neste trabalho para compor uma série homóloga de triésteres derivados da 2-piridona foi o triéster **23**.

#### 4.4. Preparação do metil-di-2-piridil fosfato (**23**)

O triéster **23** foi preparado utilizando 2 equivalentes de 2-piridona em presença de base e dicloro-metilfosfato 85%, obtido comercialmente (Figura 47).

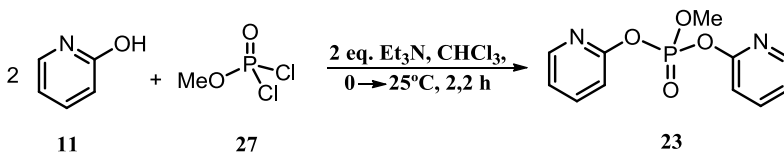


Figura 47: Preparação do triéster **23**.

Como o reagente **27** contém 15% de  $\text{POCl}_3$  como impureza, o espectro de RMN de  $^{31}\text{P}$  da síntese do triéster **23** mostrou a formação do triéster **9** (como impureza), sob a forma de um singlete em  $-20,66$  ppm e o triéster **23**, sob a forma de um quarteto ( $J_{3(\text{P-H})}=12$  Hz, característico de acoplamento entre o átomo de fósforo e os hidrogênios da metila) em  $-11,89$  ppm (Figura 48).

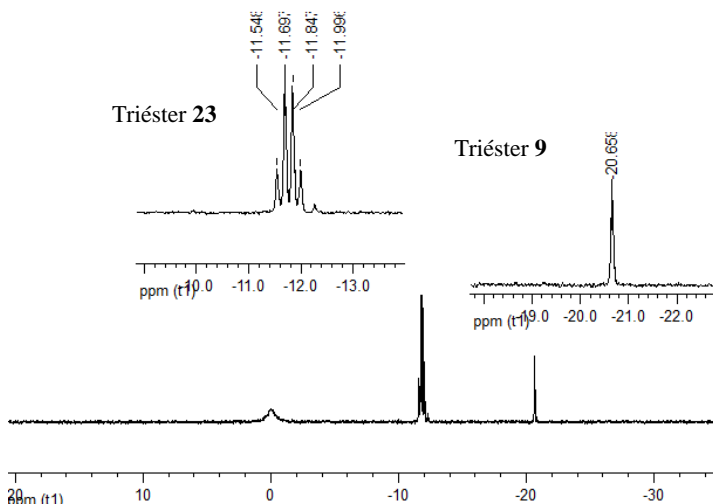


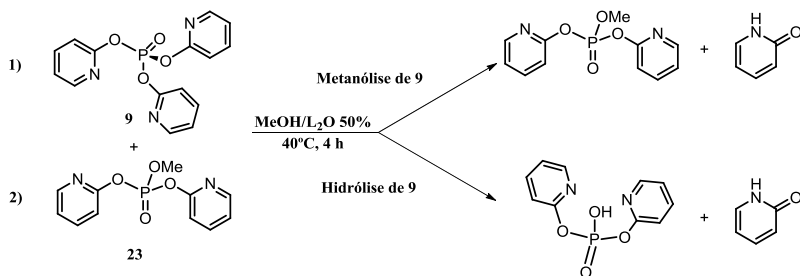
Figura 48: RMN de  $^{31}\text{P}$  (81 MHz) da síntese do triéster **23** usando  $\text{H}_3\text{PO}_4$  85% como referência externa (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

Como não foi possível obter o triéster **23** em sua forma pura, realizou-se um experimento de solvólise da mistura **9/23** utilizando metanol e água. Optou-se por esta alternativa porque o produto da reação de metanólise do triéster **9** é o triéster **23** e o produto da reação de hidrólise é o diéster **10**, mais solúvel em água e pode ser removido por extração.

#### 4.4.1. Solvólise da mistura **9/23**

A amostra contendo os dois triésteres de fosfato foi dissolvida em uma mistura metanol/ $\text{D}_2\text{O}$  50% ( $\text{pL}_{\text{corr}}$  8, onde  $\text{pL}_{\text{corr}} = \text{pL}_{\text{lido}} - 0,13$ ) e aquecida a  $40^\circ\text{C}$  por aproximadamente 4 horas para converter o triéster **9** em **23**. A reação foi acompanhada por RMN de  $^{31}\text{P}$  e após esse intervalo de tempo a análise de RMN de  $^{31}\text{P}$  (Figura 49, p.96)

evidenciou a ausência do triéster **9** e indicou a presença de **23** e formação de **10**, produto este oriundo da hidrólise do **9** (Esquema 20).



Como a solubilidade da 2-piridona e do triéster **23** é alta em clorofórmio, mas a do diéster **10** é pequena, a reação foi extraída 2 vezes com este solvente. A Figura 49 (espectro de RMN de <sup>31</sup>P) mostra que, após a extração, a única espécie que contém fósforo é o triéster **23**. Além disso, a Figura 50 (p.97) mostra a presença apenas de **23** e 2-piridona no espectro de RMN de <sup>1</sup>H.

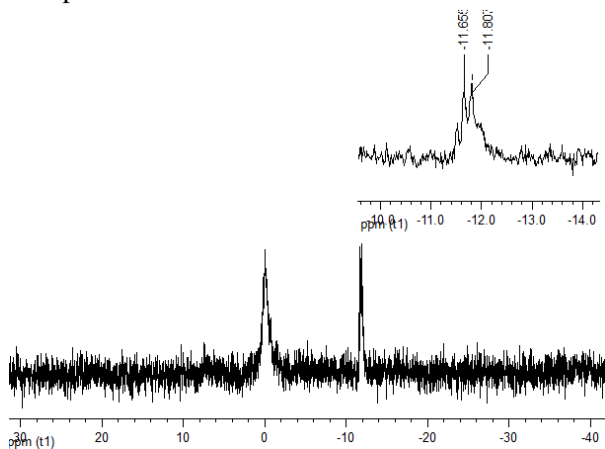


Figura 49: Espectro de RMN de <sup>31</sup>P do triéster **23** (81 MHz, CDCl<sub>3</sub> e H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 85% como referência externa).



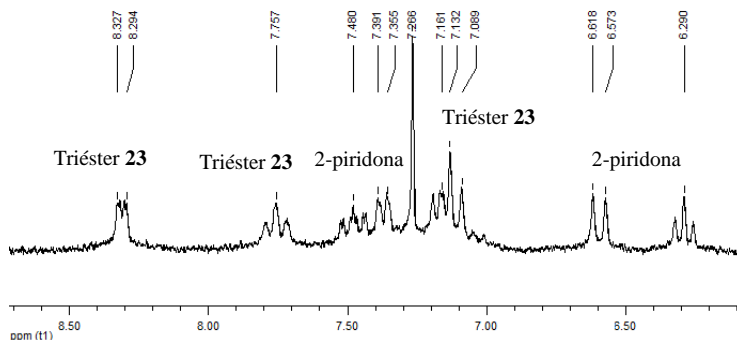


Figura 50: Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do triéster **23** (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

Não foi possível separar o triéster **23** da 2-piridona a partir do resíduo obtido do experimento de solvólise da mistura **9/23**.

#### 4.4.2. Efeito do pH na reação de hidrólise do triéster **23**

O resíduo contendo 2-piridona e o triéster **23** obtido do experimento de solvólise foi dissolvido em acetonitrila e utilizado para o estudo da influência do pH na reação de hidrólise do triéster **23**. Este estudo foi feito monitorando-se a formação da 2-piridona, apesar de esta já estar presente em solução. O gráfico de  $\log k_{\text{obs}}$  em função do pH para o triéster **23** permite observar um patamar bem definido entre os pHs 0,5–1,5 e outro iniciando-se em aproximadamente  $-2$  (Figura 51, p.98). A curva corresponde ao ajuste obtido através da Equação 13 onde  $\chi_{\text{MeDPyP}}$  corresponde à fração molar do triéster **23** neutro,  $\chi_{\text{MeDPyPH}^+}$  à fração molar do triéster **23** monoprotonado e  $\chi_{\text{MeDPyPH}_2^{2+}}$  à fração molar do triéster **23** diprotonado.

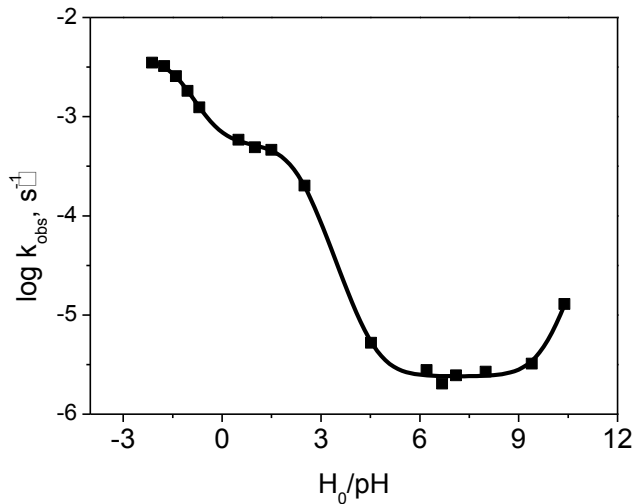


Figura 51: Variação de  $\log k_{\text{obs}}$  em função do pH para o triéster **23**.

$$\log k_{\text{obs}} = \log k_0 \chi \text{MeDPyP} + \log k_H \chi \text{MeDPyPH} + \log k_{2H} \chi \text{MeDPyPH}_2 + \log k_{\text{OH}} \chi \text{MeDPyPHO} -$$

Equação 13

A Tabela 11 resume os dados cinéticos obtidos a partir do ajuste do gráfico da variação de  $\log k_{\text{obs}}$  em função do pH do triéster **23** utilizando a Equação 13.

Tabela 11: Dados cinéticos obtidos do perfil de pH do triéster **23**.

Dados cinéticos	
$k_0$	$2,40 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1}$
$k_H$	$5,22 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$
$k_{\text{OH}}$	$0,041 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$
$\text{p}K_{\text{a}(1)}$	-1,25
$\text{p}K_{\text{a}(2)}$	2,28
$k_{2H}$	$4,01 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$

T=25°C e  $\mu=1,0 \text{ M}$  (KCl)

Os triésteres **9**, **22** e **23** constituem uma série homóloga de triésteres derivados da 2-piridona, mas com grupos espectadores diferentes entre si. Comparando-se os gráficos de  $\log k_{\text{obs}}$  em função do pH para estes triésteres, é possível observar que quando há mais grupos arila do que alquila, maior a reatividade destes compostos, haja vista que  $k_0$  (em torno de pH 7) é maior para o triéster **9** (três grupos arila), **23** tem  $k_0$  intermediário (2 grupos arila) e **22** (1 grupo arila) tem  $k_0$  menor (Figura 52).

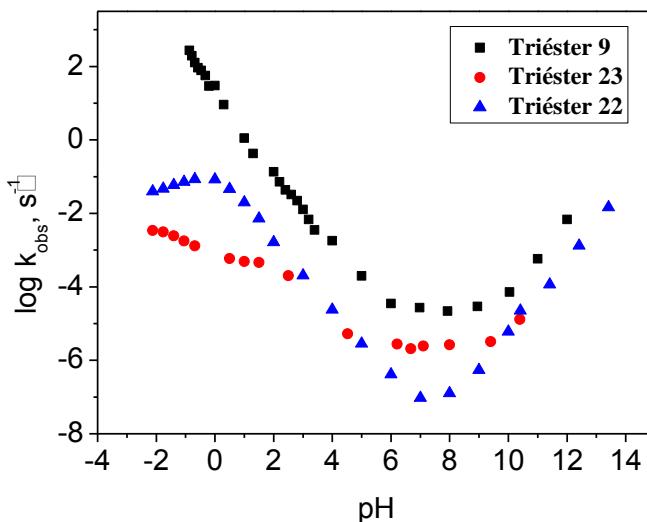


Figura 52: Variação de  $\log k_{\text{obs}}$  em função do pH para as reações de hidrólise espontânea dos triésteres **9** (■, 25°C), **23** (▲, 25°C) e **22** (●, 45°C).

Até o momento, as RLELs encontradas na literatura que descrevem a reatividade dos ésteres de fosfato levam em consideração a natureza do nucleófilo e do grupo de saída ( $pK_a$  dos mesmos). Considerando-se que tanto o triéster **25a** quanto o **25b** possuem melhores grupos de saída que o triéster **9** e o triéster **25c**, os resultados para as constantes de velocidade expressas na Tabela 7 (p.86) são bastante coerentes. No entanto, a reatividade destes triésteres não se enquadra na relação linear de energia livre proposta por Khan e Kirby.<sup>13</sup> Esta RLEL não leva em consideração os efeitos dos grupos vizinhos (grupos espectadores) na reatividade dos triésteres de fosfato. Porém, o

aumento substancial na constante de velocidade de hidrólise dos ésteres triarílicos estudados até então neste trabalho, comparados com o esperado para os ésteres dialquil arílicos correspondentes, deve ser atribuído a efeitos eletrônicos do grupo espectador.

Como foi mencionado anteriormente, a única comparação direta de grupos “espectadores” (grupos dialquil *vs.* diaril) similares num triéster, para a reação de deslocamento endocíclico do íon salicilato do triéster salicil fosfato, mostrou uma diferença de 50–60 vezes na velocidade;<sup>32</sup> (Figura 11, p.42) e essa estimativa é consistente com o valor reportado de  $10^{-8} \text{ s}^{-1}$  a  $25^\circ\text{C}$  para a reação do tri-4-nitrofenil fosfato (**25b**),<sup>5,46</sup> que possui um melhor grupo de saída.

Sabe-se também que o efeito na velocidade de hidrólise quando se substitui um grupo 4-nitrofenil por uma metila no diéster di-4-nitrofenil fosfato **53** é pouco mais que estatístico.<sup>15</sup> (Figura 53).

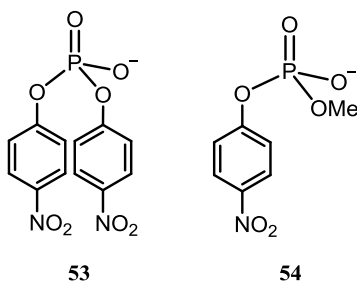


Figura 53: di-4-nitrofenil fosfato (**53**) *vs.* metil-4-nitrofenil fosfato (**54**).

Diante dessas novas evidências, que triésteres de fosfato triarílicos são mais reativos que ésteres de fosfato dialquil arílicos, foram realizados mais estudos cinéticos de outros triésteres de fosfato triarílicos e dialquil arílicos para então propor uma possível correlação entre grupos espectadores e reatividade destes compostos.

#### 4.5. Relações lineares de energia livre em reações de hidrólise de triésteres de fosfato

Iniciou-se uma investigação detalhada das reações de hidrólise de diversos triésteres de fosfato derivados de fenóis com  $pK_a$ s entre 4 e

9, em conjunto com o grupo de pesquisa do Professor Nicholas H. Williams, de Sheffield, Reino Unido.

#### 4.6. Catálise por tampão

##### 4.6.1. Catálise básica geral na hidrólise do triéster **9**

Inicialmente, as medidas cinéticas do triéster **9** foram realizadas utilizando baixa concentração de tampão, suficiente apenas manter o pH constante até o fim da reação. No entanto, se a catálise básica geral intramolecular de **9** fosse altamente eficiente, envolveria molaridades efetivas (M.E.s)<sup>16</sup> dos grupos catalíticos vizinhos tão altas que as reações com quantidades limitadas de reagentes externos, no caso os tampões, não poderiam competir.

Dessa forma, um teste simples, mas confiável, da eficiência da catálise intramolecular, é a presença ou ausência de uma catálise por tampão. Assim sendo, a catálise por tampão de **9** foi medida para os tampões comumente utilizados e listados na Tabela 12 (p.102). Verificou-se que  $k_0$  do triéster **9**, quando extrapolada para concentração zero de tampão, corresponde a  $2,20 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ , menos de 10% mais lenta que a medida anteriormente ( $2,35 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ ).

Tabela 12: Catálise por tampão na reação de hidrólise do triéster **9**.<sup>a</sup>

	pK <sub>a</sub>	pH <sup>b</sup>	<i>k</i> <sub>obs</sub> (1M tampão) ( <i>k</i> <sub>2</sub> + <i>k</i> <sub>OH</sub> + <i>k</i> <sub>0</sub> )	<i>k</i> <sub>0</sub> + <i>k</i> <sub>OH</sub> [OH] (s <sup>-1</sup> )	<i>k</i> <sub>2</sub> (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )
Água	-1,74	—	—	—	3,85×10 <sup>-7</sup>
Cloroacetato	2,87	8,1	5,71×10 <sup>-5</sup>	2,64×10 <sup>-5</sup>	3,07×10 <sup>-5</sup>
Formiato	3,75	8,0	1,85×10 <sup>-4</sup>	2,62×10 <sup>-5</sup>	1,59×10 <sup>-4</sup>
Acetato	4,75	8,5	1,90×10 <sup>-4</sup>	2,92×10 <sup>-5</sup>	1,61×10 <sup>-4</sup>
Fosfato	6,5	9,0	0,00164	4,31×10 <sup>-5</sup>	0,00154
Imidazol <sup>a</sup>	7,0	<sup>a</sup>	<sup>a</sup>	—	0,00139 <sup>a</sup>
NMM	7,75 <sup>c</sup>	<sup>d</sup>	—	—	0,00160 <sup>d</sup>
Tris	8,06	9,0	8,81×10 <sup>-4</sup>	3,64×10 <sup>-5</sup>	8,45×10 <sup>-4</sup>
Carbonato	10,3	11,2	0,0054	0,00188	0,00352
OH	15,74	—	—	—	8,1 ×10 <sup>-1</sup>

Observações. A constante de velocidade *k*<sub>2</sub> para cada tampão foi calculada a partir da constante de velocidade de primeira ordem medida com concentração de tampão 1 M e em pH adequado para considerá-lo 100% base livre: corrigindo as constantes de velocidade de hidrólise espontânea e a catalisada por base (*k*<sub>0</sub> + *k*<sub>OH</sub>[OH]).<sup>b</sup> pH da cinética. <sup>c</sup> pH onde 50% do tampão é base livre.

<sup>d</sup> Valor médio de três gráficos de segunda ordem em pH 7,4, 7,8 e 8,2.

Usando os dados da Tabela 12 obtém-se um gráfico do tipo de Brønsted (Figura 54, p.103) que é consistente com catálise do tipo básica geral. A linha refere-se ao ajuste utilizando sete nucleófilos contendo oxigênio, incluindo água e hidróxido; e três aminas – uma primária, uma terciária e uma heterocíclica. O valor calculado para β<sub>Nu</sub> incluindo os dez pontos é 0,34.

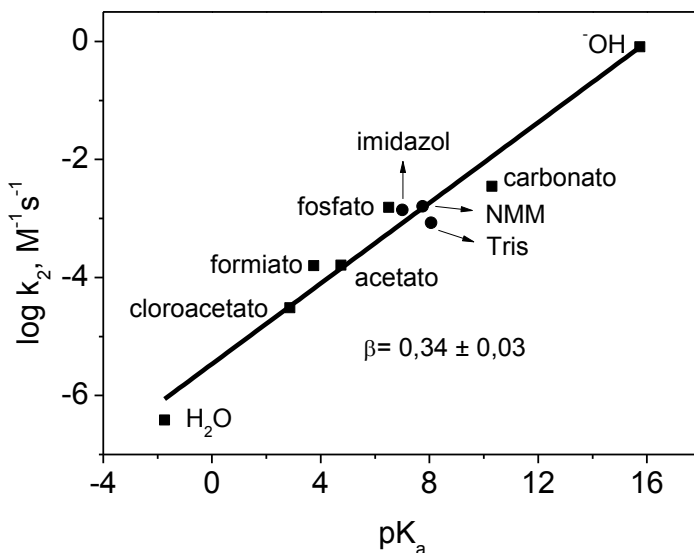


Figura 54: Gráfico de Brønsted de  $\log k_2$  vs.  $pK_a$  de diferentes tampões oxigenados (●) e nitrogenados (■) para a reação de hidrólise do triéster **9**.

Além disso, um indicativo de que há catálise por tampão nas reações de hidrólise de triésteres de fosfato triarílicos era o fato de o triéster **25c** ser hidrolisado na mesma velocidade que o triéster **9** sem, no entanto, apresentar nenhuma funcionalidade adicional que pudesse justificar a alta reatividade do mesmo.

#### 4.7. Relações lineares de energia livre – sistemas avaliados

Quatro diferentes classes de triésteres de fosfato foram avaliadas neste estudo (Figura 55).

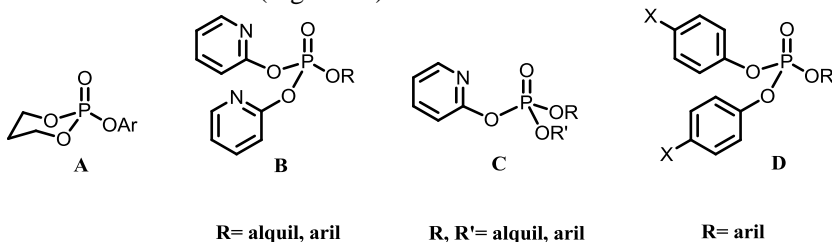


Figura 55: Classes de triésteres de fosfatos avaliadas através de relações lineares de energia livre.

A Tabela 13 (p.105) resume os dados cinéticos para os sete triésteres de fosfato triarílicos utilizados neste estudo. Foi possível medir diretamente a catálise por tampão na hidrólise dos triésteres derivados da 2-piridona (sistemas 2 e 3) e do 4-hidróxi-benzenossulfonato (sistema 4, onde  $X=SO_3^-$ ). Entretanto, os triésteres derivados de outros fenóis não são, em sua maioria, suficientemente solúveis para acompanharmos suas respectivas reações. As constantes de hidrólise ( $k_0$ ) dos demais triésteres foram obtidas por extrapolação das medidas em misturas de acetonitrila- ou dioxano-água.

As velocidades foram extrapoladas para concentração 0 de tampão após monitorar as reações em 4 diferentes concentrações de N-metil-morfolina (NMM), permitindo calcular um possível erro nas constantes de velocidade ( $k_0$ ) quando medidas em baixas concentrações de tampão. Escolheu-se a NMM porque seu  $pK_a$  (7,75) encontra-se na região onde a dependência da constante de velocidade em função do pH é menor para estes triésteres.



Tabela 13: Constantes de velocidade para a catálise por tampão (NMM) na hidrólise de sete triaril fosfatos a 25°C.<sup>a</sup>

Triéster	Faixa de pH	$k_2$ (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )	$k_0$ (s <sup>-1</sup> )	$k_H^+$ (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )	$k_{OH}^-$ (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )
<b>40</b>	7,3-8,1	$2,78 \times 10^{-4}$	$3,8 \pm 0,5 \times 10^{-6}$		$0,15 \pm 0,002$
<b>36</b>	7,3-8,1	$2,3 \times 10^{-3}$	$5 \pm 2 \times 10^{-6}$	-	$0,77 \pm 0,04$
<b>9</b>	7,4-8,2	$1,60 \times 10^{-3}$	$2,2 \pm 0,40 \times 10^{-5}$	$16 \pm 2$	$0,81 \pm 0,02$
<b>33</b>	7,4-8,2	$1,04 \times 10^{-3}$	$2,6 \pm 0,3 \times 10^{-5}$	$5,7 \pm 0,4$	$0,6 \pm 0,2$
<b>39</b>	7,3-8,1	$9,5 \times 10^{-3}$	$6 \times 10^{-5}$	-	$2,6 \pm 0,1$
<b>35</b>	7,3-8,1	$1,16 \times 10^{-2}$	$6,1 \pm 1 \times 10^{-5}$	-	$3,0 \pm 0,2$
<b>30</b>	7,3-8,1	$5,8 \times 10^{-3}$	$8,5 \pm 0,80 \times 10^{-5}$	$8,3 \pm 0,9$	$1,4 \pm 0,3$

Condições experimentais: [Tampão] NMM 50, 100, 150 e 200 mM a 30, 50 e 70% de base livre. <sup>a</sup>*Analizadas por regressão linear em termos de  $k_{obs} = k_0 + k_2[NMM_{bi}] + k_H[H^+] + k_{OH}[OH]$* . Com exceção do triéster **9**, os dados para os demais triésteres foram gentilmente cedidos por Nicholas H. Williams e Almahdi Amer. <sup>b</sup>*Medidas em 30% dioxano-água.* <sup>c</sup> 55% do produto formado ocorre via quebra da ligação P-O do grupo 4-nitrofenolato. <sup>e</sup> 68% via quebra da ligação P-O do grupo 4-nitrofenolato. \*Para melhor visualização das estruturas dos triésteres estudados, favor consultar Lista de Estruturas.

#### 4.7.1. Relação linear de energia livre para ésteres de fosfato triarílicos com grupos espectadores e de saída iguais

O logaritmo das constantes de velocidade observadas para a hidrólise espontânea dos três triaril fosfatos com grupos iguais (dados da Tabela 3, p.74 e Tabela 7, p.86) **25a**, **25b** e **25c**, em conjunto com a do triéster **9** (Figura 56, p.106) estão graficadas em função do  $pK_a$  do fenol na Figura 57 (p.106).

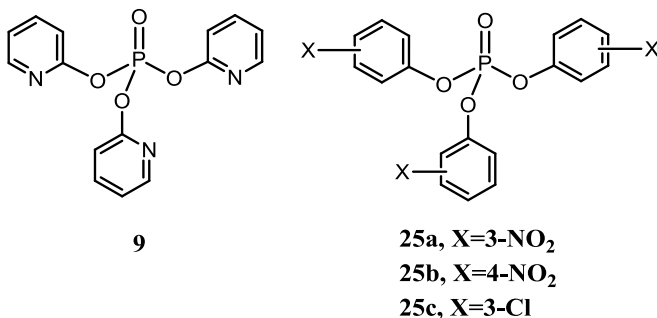


Figura 56: Triésteres triarílicos com grupos espectadores e de saída iguais.

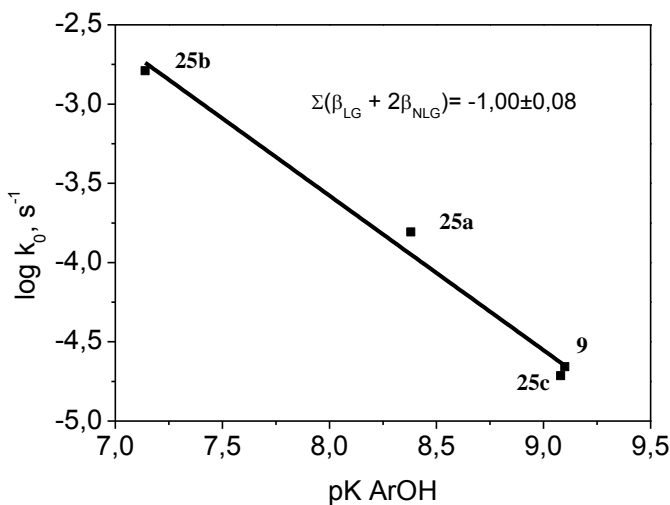


Figura 57: Gráfico de Brønsted de  $\log k_0$  vs.  $pK_a$  dos fenóis para hidrólise dos quatro triaril fosfatos **9**, **25c**, **25b** e **25a**.

O coeficiente angular de uma relação linear de energia livre é, em geral, avaliado como um parâmetro de sensibilidade de uma determinada reação em relação ao  $pK_a$  do nucleófilo ou do grupo de saída. Nesse caso, podemos interpretar o coeficiente angular da relação linear de energia livre mostrada na Figura 57 como as contribuições

tanto para o grupo de saída ( $\beta_{LG}$ ) quanto para o espectador ( $\beta_{NLG}$ ) e, portanto, podemos expressá-lo através da Equação 14.

$$2\beta_{NLG} + \beta_{LG} = -1,00 \quad \text{Equação 14}$$

Coincidentemente, a equação obtida do ajuste da Figura 57 (p.108) (Equação 15) tem um parâmetro de sensibilidade de mesmo valor, dentro do erro experimental, que aquele medido especificamente para a dependência do grupo de saída na hidrólise de triésteres dialquil arílicos (sistema **A**, Figura 55, p.104) a 39°C (Equação 16).<sup>13</sup> Entretanto, as velocidades são cerca de seis ordens de magnitude maiores – um indicativo direto do efeito pronunciado do grupo vizinho na reatividade.

$$\log k_0 = 4,37 \pm 0,68 - 1,00 \pm 0,08 \text{ p}K_{ArOH} \text{ s}^{-1} \text{ a } 25^\circ\text{C} \quad \text{Equação 15}$$

$$\log k_0 = -0,82 - 0,99 \text{ p}K_{ArOH} \text{ min}^{-1} \text{ a } 39^\circ\text{C}^{13} \quad \text{Equação 16}$$

Destarte, podemos concluir que a velocidade de clivagem de um triéster de fosfato depende tanto do grupo de saída quanto dos grupos espectadores.

## 4.8. Relações lineares de energia livre de reações de hidrólise de triésteres de fosfato derivados do 4-nitrofenol

### 4.8.1. Efeito dos grupos espectadores

A maneira mais simples de se isolar os efeitos dos grupos vizinhos nas velocidades de hidrólise dos triésteres de fosfato é medir a perda de um grupo de saída comum a uma série de compostos com diferentes grupos vizinhos. O grupo de saída mais conveniente para tal (não considerando os problemas relacionados à solubilidade) é o 4-nitrofenolato, pois o mesmo permite a utilização de diversos grupos vizinhos, muitos dados já estão disponíveis na literatura e as reações podem ser monitoradas em 400 nm sem qualquer interferência relacionada à perda de outros grupos de saída mais básicos.

Investigou-se também a hidrólise de triésteres com um ou mais grupos 2-piridil tanto de saída quanto vizinhos. A consequente reação de hidrólise dos diésteres formados são, em todos os casos, suficientemente lentas para que não haja interferência (Figura 58). A Tabela 14 (p.109) e as Figuras 60 (p.110), 64 (p.113) e 66 (p.116) resumem os novos dados obtidos neste estudo, além de, para efeito de comparação, dados relevantes da literatura.

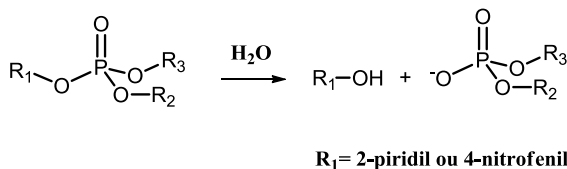


Figura 58: Reações de hidrólise dos triésteres de fosfato contendo os grupos de saída 2-piridona e 4-nitrofenol.

Para propor as relações lineares de energia livre utilizando os dados cinéticos dos triésteres de fosfato derivados do 4-nitrofenol, foram feitas algumas correções estatísticas. O valor de  $k_0$  do fosfato de di-(4-sulfonatofenil)-4-nitrofenila **39** (Tabela 13, p.105) foi corrigido para  $4,08 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ , pois a via de hidrólise que libera o grupo 4-nitrofenol corresponde à 68% do valor observado. De maneira análoga, corrigiu-se o valor de  $k_0$  do fosfato de di-(2-piridil)-4-nitrofenila **30** considerando-se 55% de liberação do grupo 4-nitrofenol. O valor de  $k_0$  do triéster **25b** foi corrigido dividindo-o por 3, uma vez que há três grupos de saída iguais. As constantes corrigidas estão na Tabela 14 em conjunto com as constantes de velocidade de quatro triésteres de fosfato derivados do 4-nitrofenol.<sup>iii</sup> Por ser muito lenta para ser medida por completo, a constante de velocidade do dietil 4-nitrofenil fosfato **55** (Figura 59, p.109) foi estimada a partir da velocidade medida para o dietil 2,4-dinitrofenil fosfato em água a  $25^\circ\text{C}$ ,<sup>47</sup> usando  $\beta_{\text{LG}} = 1,04$  e a constante do triéster **50** a partir da velocidade medida a  $39^\circ\text{C}$  para o respectivo triéster com grupo de saída 2,4-dinitrofenol (Tabela 14, p.109).<sup>13</sup> A constante de velocidade do triéster **56** (Figura 59, p.109) foi obtida da literatura.<sup>5</sup>

<sup>iii</sup> As constantes não corrigidas estão na Tabela XX (Anexos, p.XX).

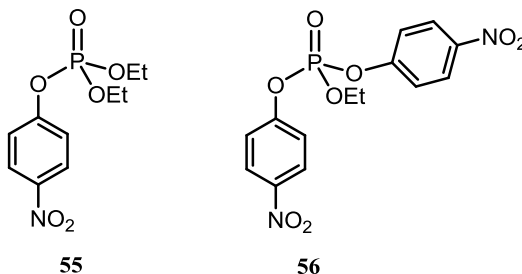


Figura 59: Estruturas dos triésteres **55** e **56** contendo o grupo de saída 4-nitrofenol.

Tabela 14: Constantes de velocidade  $k_0$  para a hidrólise espontânea de dialquil e diaril 4-nitrofenilfosfatos.<sup>1</sup>

(RO) <sub>2</sub> (Grupos espectadores)	Triéster	Solvente	pK <sub>a</sub> do ROH	$k_0$ /s <sup>-1</sup> a 25°C
(EtO) <sub>2</sub>	<b>55</b>	água	16,0, 16,0	$7,92 \times 10^{-10}$ <sup>a</sup>
(O(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> O)	<b>50</b>	< 1%	14,8, 14,8	$2,28 \times 10^{-9}$ <sup>b</sup>
		dioxano		
(CF <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> O) <sub>2</sub>	<b>42</b>	água	12,48, 12,48	$9,0 \times 10^{-6}$
(EtO), (4- O <sub>2</sub> NC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> O)	<b>56</b>	água	16,0, 7,14	$3,40 \times 10^{-6}$ <sup>5</sup>
(2-piridil) <sub>2</sub>	<b>30</b>	água	9,09, 9,09	$4,67 \times 10^{-5}$ <sup>c, d</sup>
(4- <sup>-</sup> O <sub>3</sub> SC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> O) <sub>2</sub>	<b>39</b>	água	9,03, 9,03	$4,08 \times 10^{-5}$ <sup>c, e</sup>
(4-O <sub>2</sub> NC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> O) <sub>2</sub>	<b>25b</b>	Extrap.	7,14, 7,14	$5,4 \times 10^{-4}$ <sup>c, f</sup>
		para água		

<sup>1</sup> medidos (ou estimados) em água a 25°C. <sup>a</sup> Extrapolada a partir da velocidade medida para dietil 2,4-dinitrofenil fosfato em água a 25°C, considerando  $\beta_{LG}=1,04$ .<sup>47</sup> <sup>b</sup> Baseada na velocidade medida a 39°C para o respectivo triéster derivado do 2,4-dinitrofenol.<sup>13</sup> <sup>c</sup> Dados gentilmente cedidos por Nicholas Williams e Almahdi Amer. <sup>d</sup> Razão entre produtos 55:45 *p*-nitrofenolato:piridona. <sup>e</sup> Razão entre produtos 68:32 nitrofenolato: hidróxi-benzenossulfonato. <sup>f</sup> O valor de  $1 \times 10^{-8}$  s<sup>-1</sup> reportado na literatura<sup>46</sup> está impresso incorretamente. Além disso, o valor recentemente publicado<sup>44</sup> de  $2 \times 10^{-3}$  s<sup>-1</sup> não está corrigido para a catálise por tampão. \*Para melhor visualização das estruturas dos triésteres estudados, favor consultar Lista de Estruturas.

As constantes de velocidade dos triésteres dialquil e diarílicos derivados do 4-nitrofenol (Tabela 14, p.109) podem ser utilizadas para construir um gráfico de  $\log k_{\text{obs}}$  em função da soma dos  $\text{p}K_{\text{a}}$ s dos grupos espectadores (Figura 60).

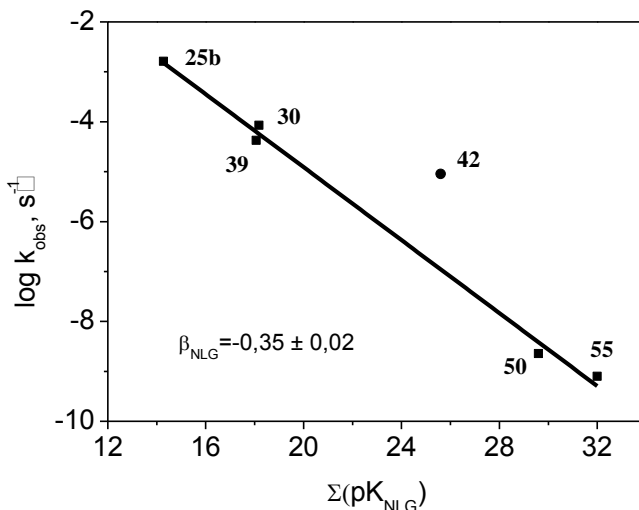


Figura 60: Correlação do tipo de Brønsted de  $\log k_{\text{obs}}$  de triésteres derivados do 4-nitrofenol em função da soma dos  $\text{p}K_{\text{a}}$ s dos grupos espectadores.

Observando-se a Figura 60, nota-se que o triéster dialquil arílico **42** desvia-se dos demais, com uma velocidade 48 vezes maior do que o previsto pela curva.

#### 4.8.2. Efeito do grupo de saída

Quando se compara o comportamento do triéster **42** com mais dois outros contendo grupos de saída arílicos diferentes (derivados dos fenóis 3-flúor-4-nitrofenol e 2,4-dinitrofenol; Figura 61, p.111) e os dois grupos  $\text{CF}_3\text{CH}_2\text{O}-$  como espectadores (Tabela 15, p.111), obtém-se um gráfico do tipo de Brønsted de  $\log k_0$  vs grupo de saída (Figura 62, p.112).

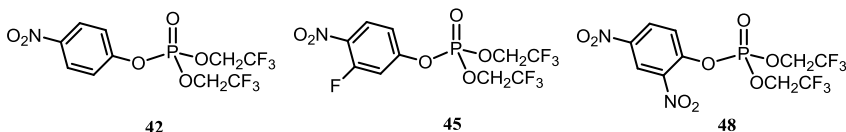


Figura 61: Triésteres dialquil arílicos **42**, **45** e **48**.

Tabela 15: Dados de  $pK_a$  e cinéticos para a hidrólise de triésteres  $(\text{CF}_3\text{CH}_2\text{O})_2\text{P}(=\text{O})-\text{OAr}$  (dialquil arilados)<sup>a</sup>

Grupo de saída	Triéster	$pK_a$ (ArOH) <sup>b</sup>	$k_0/\text{s}^{-1}$	$k_{\text{OH}}/\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$
2,4-dinitrofenil	<b>48</b>	4,10	$1,10 \pm 0,02 \times 10^{-2}$	$17 \pm 1$
3-flúor-4-nitrofenil	<b>45</b>	6,10	$7,2 \pm 0,4 \times 10^{-5}$	$7,9 \pm 0,2$
4-nitrofenil	<b>42</b>	6,95	$9 \pm 1 \times 10^{-6}$	$2,99 \pm 0,07$
4-clorofenil	<b>49</b>	9,02	-----	$0,69 \pm 0,02$

T=25°C e  $\mu=1,0\text{M}$ .<sup>a</sup> Medidas usando tampão acetato, pH 4,2 – 5,1; <sup>b</sup> valores de  $pK_a$ s medidos sob as condições experimentais mencionadas. Dados gentilmente cedidos por Nicholas Williams e Almahdi Amer. \*Para melhor visualização das estruturas dos triésteres estudados, favor consultar Lista de Estruturas.

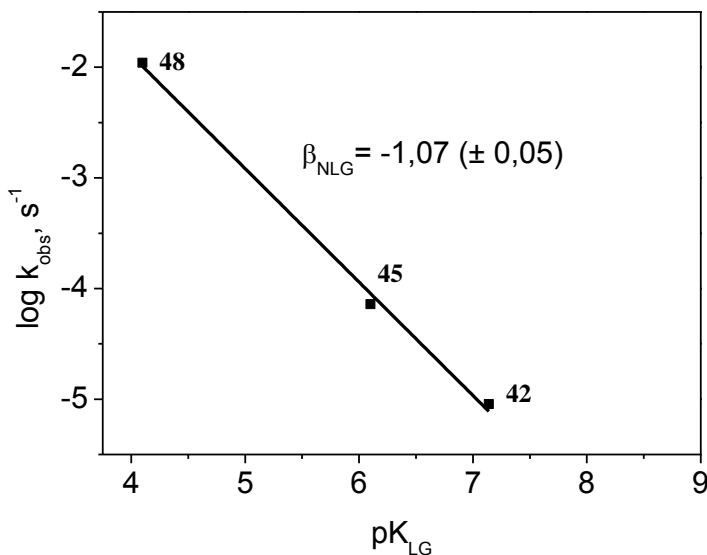


Figura 62: Correlação do tipo de Brønsted: variação do  $\log k_{\text{obs}}$  para reações de hidrólise dos triésteres de fosfato **42**, **45** e **48** em função  $\text{pK}_{\text{a}}$  dos grupos de saída.

O gráfico de Brønsted, para grupos de saída, obtido a partir dos dados da Tabela 13, fornece  $\beta_{\text{LG}} = 1,07 \pm 0,02$ , valor bem próximo do obtido anteriormente por Khan e Kirby para o sistema dialquil arílico **A** (Figura 55, p.104).<sup>13</sup> Além disso, os dados cinéticos referentes ao triéster **42** podem ser correlacionados com os dados disponíveis para os respectivos triésteres **50** (do sistema **A**, onde o grupo espectador é  $\text{O}(\text{CH}_2)_3\text{O}$ ) e **53** (do sistema **C**, onde os grupos espectadores são  $\text{EtO}$ ) (Figura 63, p.113), permitindo então a medida direta da sensibilidade das velocidades de hidrólise em função do  $\text{pK}_{\text{a}}$  dos grupos espectadores destes fosfatos dialquil arilados.



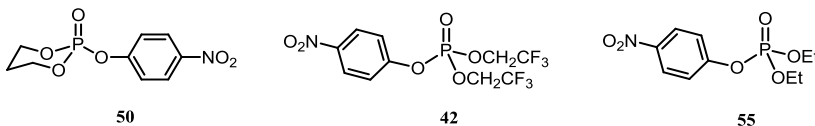


Figura 63: Triésteres dialquil arílicos derivados do 4-nitrofenol utilizados para avaliação do efeito dos grupos espectadores.

### 4.8.3. Efeito dos grupos espectadores alcóxi vs arilóxi

Como foi discutido anteriormente, há evidências que sugerem que os sistemas dialquil arilados devem ser analisados de maneira independente dos sistemas triarilados. A Figura 64 mostra duas RLEs a partir dos dados relativos aos triésteres de fosfato derivados do 4-nitrofenol analisadas neste contexto. Os dados da Tabela 14 (p.109) estão graficados separadamente sendo o ajuste com menor inclinação ( $\beta_{\text{NLG}}=0,29$ ) referente aos triésteres triarilados e o ajuste com maior inclinação ( $\beta_{\text{NLG}}=0,60$ ) aos triésteres dialquil arilados.

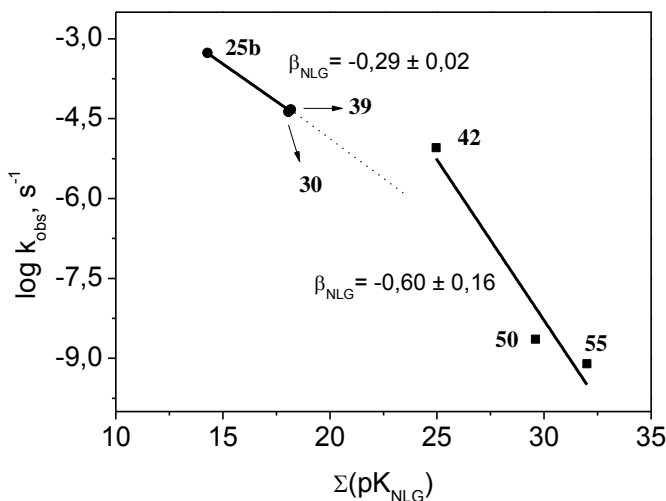


Figura 64: Correlações do tipo de Brønsted: variação do log de  $k_{\text{obs}}$  para as reações de hidrólise de triésteres triarilados (●) e dialquil arilados (■) analisados de maneira independente um do outro e considerando-se como grupo de saída o 4-nitrofenol em função do somatório dos pK<sub>a</sub>s dos grupos espectadores.

Com isso, é possível concluir que o desvio observado na figura 60 (p.110) referente ao triéster **42** é, na verdade, uma evidência de que os parâmetros de sensibilidade aos efeitos dos grupos espectadores ( $\beta_{\text{NLG}}$ ) e ao grupo de saída ( $\beta_{\text{LG}}$ ), são maiores para sistemas dialquil arílicos que para sistemas triarílicos.

Por fim, podemos resumir os resultados da seguinte maneira:

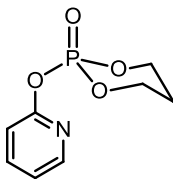
**Para os sistemas dialquil arilados,**  $\beta_{\text{NLG}} = -0,60 (\pm 0,16), \beta_{\text{LG}} = -0,99 (\pm 0,02)^{13}$

**Para sistemas triarilados (Fig. 37)**  $\beta_{\text{NLG}} = -0,29 (\pm 0,003); \beta_{\text{LG}} = -0,42 (\pm 0,09)$

(por diferença, usando  $(2\beta_{\text{NLG}} + \beta_{\text{LG}}) = -1,00 \pm 0,08$ )

#### 4.9. Hidrólise de triésteres de fosfato derivados da 2-piridona

De maneira análoga aos triésteres de fosfato contendo o 4-nitrofenol como grupo saída, os triésteres de fosfato derivados da 2-piridona foram tratados em termos de uma correlação do tipo de Brønsted de  $\log k_0$  vs soma dos  $\text{p}K_{\text{a}}$  dos grupos espectadores a partir dos dados da Tabela 16 (p.115). A constante de velocidade do triéster **57** (Figura 65) foi estimada a partir da extrapolação para 25°C usando o gráfico de Arrhenius das velocidades medidas para o respectivo éster derivado do 2,4-dinitrofenol usando  $\beta_{\text{LG}} = -0,99$ .



**57**

Figura 65: Dialquil aril fosfato **57** derivado da 2-piridona.

Tabela 16: Constantes de velocidade  $k_0$  para a hidrólise espontânea de di-alquil e/ou aril 2-piridil fosfatos  $(RO)_2P(O)-O-2-Py$  medidos (estimados) em água a 25°C.

$(RO)_2$ (Grupos espectadores)	Triéster	$pK_a$ dos grupos espectadores	$k_0$ /s <sup>-1</sup> 25°C	a
$(EtO)_2$	<b>22</b>	16,0;16,0	$1,29 \times 10^{-11}$	<sup>a</sup>
$(O(CH_2)_3O)$	<b>57</b>	14,8;14,8	$2,84 \times 10^{-11}$	<sup>b</sup>
EtO, 2-piridil	<b>28</b>	16,0;9,09	$3,59 \times 10^{-7}$	<sup>c</sup>
MeO, 2-piridil	<b>23</b>	15;9,09	$2,40 \times 10^{-6}$	<sup>c</sup>
4-ClC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> O, 2- piridil	<b>33</b>	9,38;9,09	$2,60 \times 10^{-5}$	<sup>d</sup>
$(2\text{-piridil})_2$	<b>9</b>	9,09;9,09	$2,2 \times 10^{-5}$	<sup>e</sup>
4-O <sub>2</sub> NC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> O, 2- piridil	<b>30</b>	7,14;9,09	$3,83 \times 10^{-5}$	<sup>f</sup>

<sup>a</sup> Estimada a partir da reação em água a 25°C do éster di-etil-2,4-di-nitrofenil fosfato usando  $\beta = -0,99$ .<sup>47</sup> <sup>b</sup>Extrapolação para 25°C usando o gráfico de Arrhenius das velocidades medidas para o éster derivado do 2,4-dinitrofenol usando  $\beta_{LG} = -0,99$ . <sup>c</sup> Este trabalho. <sup>d</sup> Tabela 6 (Anexo). <sup>e</sup> Este trabalho. <sup>f</sup> Este trabalho. Razão entre produtos 55:45 nitrofenolato: piridona. \*Para melhor visualização das estruturas dos triésteres estudados, favor consultar Lista de Estruturas.

A partir dos dados da Tabela 16, estatisticamente corrigidos para ésteres com mais de um grupo de saída 2-piridona, é possível construir um gráfico do tipo de Brønsted (Figura 66, p.116).

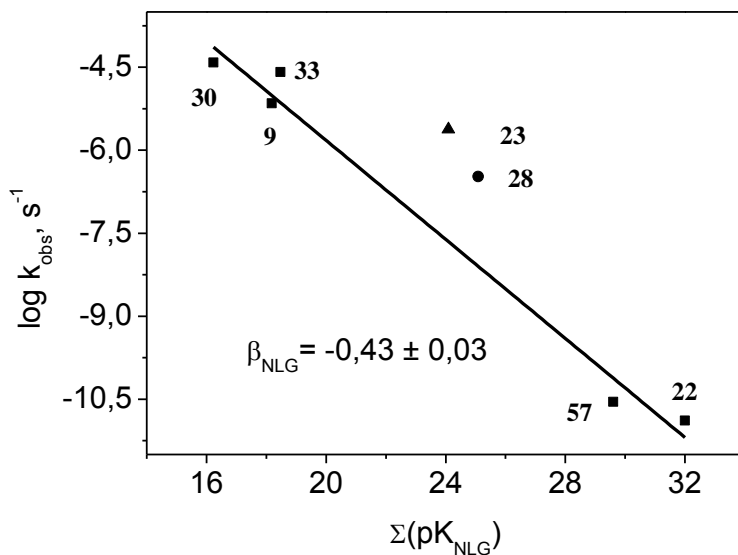


Figura 66: Correlação do tipo de Brønsted para grupos espectadores: variação do  $\log k_{\text{obs}}$  ( $\text{s}^{-1}$ ) para a reação de hidrólise espontânea de 2-piridil fosfatos  $(\text{RO})_2\text{P}(\text{O})\text{--O-2-Py}$  em função da soma dos  $\text{p}K_{\text{a}}$ 's ( $\Sigma\text{p}K_{\text{NLG}}$ ) dos dois grupos vizinhos,  $25^\circ\text{C}$ .

O coeficiente angular do ajuste ( $\beta_{\text{NLG}} = -0,43$ ) é semelhante ao obtido para os triésteres derivados do *p*-nitrofenol. Os dois pontos fora da curva ( $\blacktriangle$ ) e ( $\bullet$ ) correspondem aos triésteres **23** e **28**, respectivamente, que possuem um grupo alquil e um grupo aril como espectador. É de se esperar que este sistema tenha reatividade intermediária em relação aos sistemas di-alquil arílico e triarílico, mas são necessários mais dados para se comprovar esta hipótese.

A relação linear de energia livre apresentada na Figura 64 (p.113) revela que as reações de hidrólise de triésteres derivados do 4-nitrofenol possuem forte sensibilidade à basicidade dos grupos espectadores, avaliados como o parâmetro de Brønsted do grupo espectador ( $\beta_{\text{NLG}}$ ), nesse caso,  $-0,35 \pm 0,02$ . O mesmo ocorre com triésteres derivados da 2-piridona, onde  $\beta_{\text{NLG}} = -0,43 \pm 0,03$ . A partir da Figura 57 (p.106), onde  $2\beta_{\text{NLG}} + \beta_{\text{LG}} = -1,00 \pm 0,08$ , podemos estimar o valor de  $\beta_{\text{LG}}$  para estas reações em torno de  $-0,3$  e  $-0,14$ .

respectivamente. Estes valores são significativamente menores que aquele observado para triésteres di-alquil arílicos, próximo de  $-1$ .

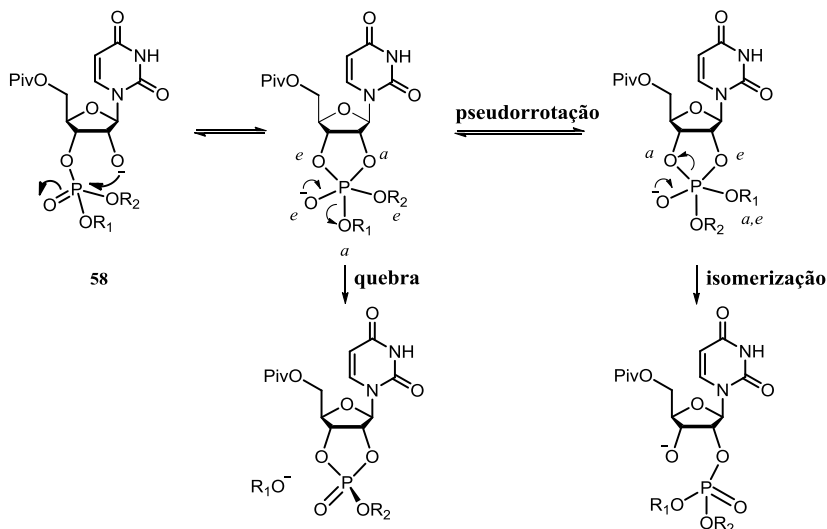
Os produtos das reações de triésteres triarílicos assimétricos são consistentes com essa observação, pois permitem estimar a diferença entre  $\beta_{\text{NLG}}$  e  $\beta_{\text{LG}}$  ( $\Delta\beta$ ). Para um triéster contendo dois possíveis grupos de saída, com constantes de velocidade  $k_1$  e  $k_2$ , respectivamente, sendo  $\log k_1/k_2 = \Delta\beta \times \Delta pK_a$ .

Considerando-se a hidrólise do triéster **30** (sistema **A**, R=4-nitrofenil, Figura 55, p.104) e  $\Delta pK_a=1,95$ , sendo 55% de contribuição da via de liberação do grupo 4-nitrofenolato, o valor de  $\Delta\beta$  é  $-0,2$ . Analogamente, a hidrólise do triéster **39** (sistema **D**, X=SO<sub>3</sub><sup>-</sup> e R=4-nitrofenil, Figura 55, p. 104),  $\Delta pK_a$  é 1,89. Nesse caso, a via de liberação do grupo 4-nitrofenolato contribui com 68% e  $\Delta\beta = -0,33$ . Sendo assim,  $\beta_{\text{LG}}$  é ligeiramente mais negativo que  $\beta_{\text{NLG}}$ . Combinando com a equação 17 ( $2\beta_{\text{NLG}} + \beta_{\text{LG}} = -1,00 \pm 0,08$ ), obtêm-se valores de  $\beta_{\text{LG}} = -0,47$  e  $-0,55$  e  $\beta_{\text{NLG}} = -0,27$  e  $-0,22$ . Portanto, em termos de energia livre, o aumento da reatividade dos triésteres triarílicos, derivados de fenóis mais ácidos, se deve aos efeitos (aproximadamente de mesma magnitude) dos grupos espectadores e de saída.

#### 4.10. Reações de triésteres com nucleófilos

Kosonen e colaboradores<sup>48</sup> estudaram as reações de quebra-ciclicização de triésteres triarílicos derivados da uridina **58** (Esquema 21, p.118) e informações importantes acerca das mesmas puderam ser obtidas. A hidrólise espontânea deste sistema apresenta  $\beta_{\text{LG}} = -0,94 \pm 0,13$ , valor semelhante aos observados para derivados dialquil arílicos. Porém, estes compostos também sofrem reações competitivas de isomerização nas quais as velocidades dependem dos grupos espectadores R<sub>1</sub> e R<sub>2</sub>. Uma vez que estas reações envolvem ataque intramolecular por oxianions nucleofílicos, analisou-se também o efeito de nucleófilos fortes em reações com alguns triésteres discutidos anteriormente.

Próxima da neutralidade, a reação de quebra é independente do pH, provavelmente devido ao fato de etapa determinante da velocidade ser uma catálise ácida geral. Piv é o grupo protetor pivalil, *a* e *e* denotam as posições axial e equatorial dos grupos respectivamente.



Esquema 21: Quebra/ciclização e isomerização competitivas de triésteres uridil dialquilados **58**.

A Tabela 17 (p.119) e a Figura 67 (p.120) resumem os dados cinéticos para os triésteres de fosfato contendo o grupo de saída 2-piridona para as reações com os nucleófilos fluoreto ( $F^-$ ) e hidróxido ( $HO^-$ ). Os valores de  $\beta_{NLG}$  em ambos os casos é  $-0,13 \pm 0,01$ . Pode-se concluir que a sensibilidade das reações envolvendo o ataque de nucleófilos mais fortes que a água frente aos grupos espectadores é significativamente menor.

Tabela 17: Constantes de velocidade  $k_2$  para as reações entre nucleófilos e 2-piridil fosfatos  $(RO)_2P(O)-O-2-Py$  medidas em água a 25°C.

$(RO)_2$ (Grupos espectadores)	Triéster	$pK_a$ dos grupos espectadores	$k_2 / M^{-1} s^{-1}$ a 25°C	
			$HO^-$	$F^-^a$
$(EtO)_2$	<b>22</b>	16,0;16,0	$2,9 \pm 0,2$ $\times 10^{-3}$	-
EtO, 2-piridil	<b>28</b>	16,0;9,09	$6,7 \pm 0,5$ $\times 10^{-2 a,b}$	$6,1 \pm 0,2$ $\times 10^{-3 b}$
EtO, 4-ClC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> O	<b>59</b>	16,0;9,38	$4,3 \pm 0,4$ $\times 10^{-2 a}$	$2,2 \pm 0,1$ $\times 10^{-3}$
$(Py-2-O)_2$	<b>9</b>	9,09;9,09	$8,1 \pm 0,2$ $\times 10^{-1 b}$	$7,1 \pm 0,2$ $\times 10^{-2 b}$
4-ClC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> O, 2-piridil	<b>33</b>	9,38;9,09	$6 \pm 2$ $\times 10^{-1 c}$	$3,2 \pm 0,1$ $\times 10^{-2 c}$
4-O <sub>2</sub> NC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> O, 2-piridil	<b>30</b>	7,14;9,09	$1,49 \pm 0,09^d$	-

<sup>a</sup> Os dados cinéticos foram cedidos por Nicholas Williams. <sup>b</sup> Os valores foram corrigidos dividindo-se as constantes por 3. <sup>c</sup> Os valores foram corrigidos dividindo-se as constantes por 2. <sup>d</sup> O valor do gráfico foi corrigido estatisticamente considerando-se liberação de 55:45 nitrofenolato: 2-piridona. O valor obtido foi dividido por 2.

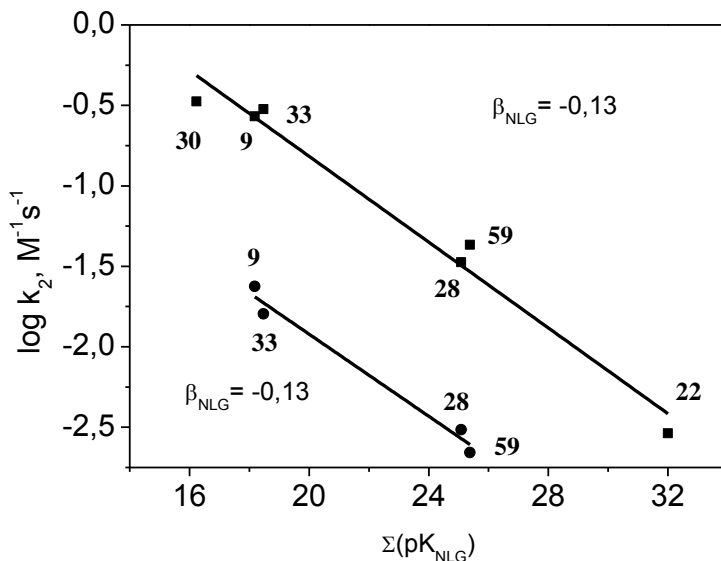


Figura 67: Correlação do tipo de Brønsted: variação do  $\log k_2$  das reações entre 2-piridil fosfatos  $(RO)_2P(O) - O-2-Py$  e os nucleófilos fluoreto e hidróxido em função da soma dos  $pK_a$ s dos dois grupos espectadores.

Os baixos valores de  $\beta_{NLG}$  (Figura 67) são semelhantes ao observado previamente para a reação de deslocamento endocíclico do íon salicilato de triésteres derivados do ácido salicílico (Figura 68, p.121),<sup>31,32</sup> a única comparação direta dos efeitos dos grupos espectadores dialquil (triéster **59**) e diaril (triéster **60**) na clivagem de triésteres de fosfato encontrada na literatura ( $\beta_{NLG} = -0,20 \pm 0,02$ ).



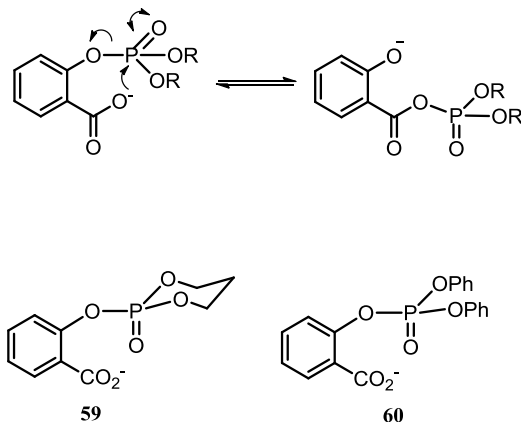


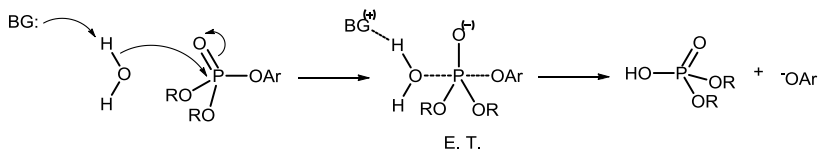
Figura 68: Reação de deslocamento endocíclico em salicilatos com grupos espectadores dialquil e diaril.

Estas reações, tais quais as que ocorrem com triésteres uridil **58** no Esquema 21 (p.118), não devem ocorrer por deslocamento em linha do grupo de saída. O mais provável é que ocorra uma pseudorotação rápida nos intermediários pentacovalentes (pentacoordenados) (como mostram as Figuras 11, p.42 e o Esquema 21, p.118), sendo a eliminação do grupo de saída (quebra da ligação LG-P) a etapa determinante da velocidade. Os valores de  $\beta_{LG}$ ,  $-1,44$  para o sistema salicil (Figura 68) e  $-1,26$  para o sistema uridil **58** (Esquema 21, p.118) são elevados, como esperado para estados de transição tardios, onde a quebra da ligação P-O encontra-se muito avançada. Vale dizer que os valores de  $\beta_{NLG}$  seguem o padrão observado para a hidrólise espontânea dos triésteres descritos acima, onde o sistema trialquilado **58** apresenta maior sensibilidade ( $\beta_{NLG} = -0,55$ ) que o sistema salicil ( $\beta_{NLG} = -0,20$ ), onde o grupo de saída é arilóxi (Figura 68).

#### 4.10.1. Mecanismo de transferência de grupo fosfato

Até o momento, assumiu-se, implicitamente, que os mecanismos das reações de hidrólise espontânea ( $k_0$ ) estudadas neste trabalho envolvem mecanismos do tipo  $S_N2(P)$  concertados. (Esquema 22, p.122). A mudança no coeficiente angular da relação linear de energia livre da Figura 64 (p.113) pode ser atribuída à uma alteração no estado de transição, não à uma mudança na etapa determinante da

velocidade da reação, em um mecanismo que necessariamente envolve a formação de um intermediário.



Esquema 22: Mecanismo concertado  $S_N2(P)$  de hidrólise de triésteres pelo caminho de catálise básica geral.

Estando pelo menos um bom grupo de saída envolvido em cada caso, seria improvável que houvesse formação de um intermediário de adição pentacovalente com uma carga negativa localizada. Para um processo em duas etapas envolvendo a formação completa de um intermediário de adição pentacovalente e uma nova ligação HO-P, sendo o íon hidróxido um grupo de saída ruim, a adição do mesmo deveria ser, necessariamente, a etapa determinante da velocidade. Isto faria com que a alta sensibilidade ao grupo de saída – consistente com o avançado grau de quebra da ligação P-OAr – fosse difícil de ser explicada.

É preferível interpretar todas as evidências de catálise básica geral nas reações de hidrólise de triésteres, incluindo a reação  $k_0$ , em termos de uma variação no estado de transição (E.T. no Esquema 22): com os quatro grupos variáveis – nucleófilo, de saída e espectadores – contribuindo em diferentes proporções para sua estabilidade.

Os trabalhos anteriores<sup>13</sup> evidenciaram a variação nos parâmetros  $\beta_{LG}$  e  $\beta_{Nu}$  obtidos a partir das reações lineares de energia livre e demonstraram a interdependência entre os mesmos.

A distribuição de carga no estado de transição (E.T.) (Esquema 22) depende das eletronegatividades relativas dos grupos OR e OAr, este último com maior capacidade de acomodar a carga negativa e, conseqüentemente, favorecer a posição apical no arranjo bi-pirâmide trigonal. Em sistemas trialquílicos, o estado de transição (E.T.) será tardio e a carga negativa melhor distribuída com os grupos OR equatoriais, de modo que  $\beta_{LG}$  e  $\beta_{Nu}$  aumentam.

Alternativamente, pode-se interpretar a quebra apresentada na Figura 64 (p.113) como uma mudança na etapa determinante da velocidade da reação: nesse caso, a etapa determinante deixaria de ser a

formação para se tornar a quebra do intermediário de adição pentacovalente.<sup>49</sup>

A quebra exocíclica de ésteres salicílicos (Figura 68, p.121),<sup>31</sup> e a quebra de derivados de nucleosídeos como **58** (Esquema 21, p.118), que envolvem inicialmente uma ciclização,<sup>48,49</sup> seguida pela saída (eliminação) dos grupos de saída ruins, ou, após (provavelmente rápidas) pseudorotações, isomerização, são exemplos que suportam tal hipótese. Os intermediários pentacovalentes envolvidos (ver Esquema 21, p.118 para exemplos) são estabilizados pela formação do anel bem como ausência de um bom grupo de saída.

Quando a quebra da ligação exocíclica P—OR é determinante da velocidade, valores elevados de  $\beta_{LG}$  são observados: -1,26 e -1,44 para **58** (Esquema 21) e para os sistemas **59** e **60** (Figura 68), respectivamente. Os dados para isomerização do sistema **58** fornecem valores de  $\beta_{NLG}$  apenas para as reações catalisadas tanto por ácido quanto por base, uma vez que a reação pH-independente contribui pouco quando comparada com a quebra.

Por fim, restava reanalisar a *elevada reatividade do triéster 9* interpretada em termos de catálise básica geral intramolecular promovido pelos átomos de nitrogênio do anel piridínico (Figura 37, p.83).

#### 4.11. Reavaliação do mecanismo de catálise básica geral intramolecular proposto para a reação de hidrólise do triéster **9**

A hidrólise espontânea do triéster **9** envolve catálise básica geral com ataque da água como nucleófilo efetivo, como pode ser observado pelo acentuado efeito isotópico de deutério,  $k_{H_2O}/k_{D_2O} = 3,15$ .<sup>33</sup> A(s) base(s) geral(is) envolvida(s) deve(m) ser moléculas de água ligadas entre si por ligações de hidrogênio, uma vez que a velocidade observada não é significativamente maior que o esperado para um triéster derivado de um fenol com mesmo  $pK_a$ , e assim, qualquer contribuição proveniente dos nitrogênios do anel piridínico, como sugerido anteriormente,<sup>33</sup> deve ser mínima. Adicionalmente, observa-se que a hidrólise do di-2-piridil 4-nitrofenil fosfato, **30**, Tabela 14, p.109) fornece quantidades similares de piridona e 4-nitrofenolato (melhor grupo de saída), o que é totalmente consistente com o gráfico de Brønsted da Figura 54 (p.103), que correlaciona a catálise por uma ampla gama de bases gerais.

Os nitrogênios dos grupos espectadores 2-piridil estão posicionados adequadamente para auxiliar no ataque da água no átomo de fósforo do triéster **9** (Figura 37, p.83), mas não são capazes competir com 55 M de água. O melhor argumento é, evidentemente, a baixa basicidade ( $pK_a$  ca. -0,22) desses átomos.

É possível entender estes resultados da seguinte maneira: a equação de Brønsted gerada pelo ajuste na Figura 54 (p.103) permite estimar a constante de segunda ordem catalisada por uma base externa com mesmo  $pK_a$  dos grupos 2-piridil do triéster **9** (-0,22), obtendo-se o valor de  $k_2 = 2,8 \times 10^{-6} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ . Uma reação de catálise intramolecular moderada, com uma molaridade efetiva (M. E.) igual a 1M, contribuiria com aproximadamente 10% para a velocidade de hidrólise observada.

É normal que uma catálise básica geral intramolecular seja ineficiente em um sistema simples, com molaridades efetivas tipicamente menores que 10 M, até mesmo para bases gerais relativamente fortes.<sup>16</sup> Por fim, a catálise básica geral neste sistema, ilustrada por uma transferência de próton da água para o nitrogênio, não pode se tornar termodinamicamente favorável ( $pK_a$  do  $\text{H}_2\text{O}^{(+)} \cdots \text{P} \geq -0,22$ , Figura 69) até que a ligação O-P esteja próxima de se formar. Portanto, sendo a reação de hidrólise do triéster **9** lenta e que, por definição deve ter um estado de transição tardio, torna-se improvável que o nitrogênio do grupo 2-piridil possa auxiliar na quebra da ligação P-Grupo de saída significativamente. Não há nenhuma base estrutural que justifique uma ligação de hidrogênio intramolecular.

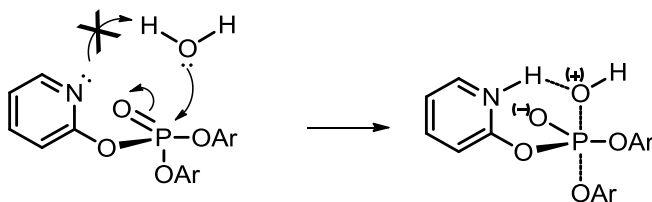


Figura 69: Etapa determinante numa catálise básica geral intramolecular (hipotética) pelo grupo 2-piridil de um triéster.

## 5. CONCLUSÕES

Os trabalhos anteriores sobre as reações de transferência do grupo fosfato dedicaram-se às contribuições do nucleófilo e do grupo de saída na reatividade dos sistemas estudados. No entanto, novas evidências mostram que os efeitos dos grupos espectadores sobre o átomo de fósforo podem ser tal qual importantes.

- (i) A velocidade de clivagem de um triéster de fosfato depende tanto do grupo de saída ( $\beta_{LG}$ ) quanto dos grupos espectadores ( $\beta_{NLG}$ ). Para os sistemas dialquil arilados,  $\beta_{NLG} = -0,60 (\pm 0,16)$ ,  $\beta_{LG} = -0,99 (\pm 0,02)$ <sup>13</sup>
- (ii) Para sistemas triarilados (Fig. 37)  $\beta_{NLG} = -0,29 (\pm 0,003)$ ;  $\beta_{LG} = -0,42 (\pm 0,09)$  (por diferença, usando  $(2\beta_{NLG} + \beta_{LG}) = -1,00 \pm 0,08$ ).
- (iii) As sensibilidades, expressas como  $\beta_{LG}$  e  $\beta_{NLG}$ , para os sistemas menos reativos, com mais de um grupo alquil espectador (ou de saída) são mais pronunciadas.
- (iv)  $\beta_{LG}$  e  $\beta_{NLG}$  para os sistemas triarílicos (mais reativos) derivados de fenóis mais ácidos (Tabela 16, p.115) são menos pronunciadas. Estes valores são maiores que os observados para os sistemas di-alquil arilados.
- (v) A sensibilidade das reações de triésteres envolvendo o ataque de nucleófilos mais fortes que a água frente aos grupos espectadores, expressa como coeficiente  $\beta_{Nu}$ , é significativamente baixa.
- (vi) A Tabela 18 (p.126) resume os parâmetros sensibilidade ao grupos de saída e ao grupos espectadores para as reações de triésteres de fosfato obtidos neste trabalho e da literatura.

Tabela 18: Sensibilidade ao grupo de saída e aos grupos espectadores em reações de transferência do grupo fosfato de triésteres.

Triéster	Nucleófilo Efetivo	$\beta_{\text{NLG}}$	$\beta_{\text{LG}}$	Dados comparados	Ref.
Reações de hidrólise espontânea					
(ArO) <sub>3</sub> PO	H <sub>2</sub> O	-0,29	-0,42	$k_0$	Figs. 57 (p.106), 64 (p.113)
	H <sub>2</sub> O		$\pm 0,09$		
(RO) <sub>2</sub> P(O)OAr	H <sub>2</sub> O	-0,22	-0,47,	% produto	Este trabalho
		-0,27	-0,55		
		-0,60	-0,99	$k_0$	Este trabalho
		$\pm 0,16$	$\pm 0,03$		
(CF <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> O) <sub>2</sub> P(O)OAr	H <sub>2</sub> O		-1,07 $\pm 0,02$	$k_0$	Este trabalho
Reações com bons nucleófilos					
(RO) <sub>2</sub> P(O)OAr	HO <sup>-</sup>	-0,16 $\pm 0,02$	-0,38 $\pm 0,02$	$k_{\text{OH}}$	Este trabalho, 13
(CF <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> O) <sub>2</sub> P(O)OAr	HO <sup>-</sup>	-0,13 $\pm 0,01$	-0,28 $\pm 0,04$	$k_{\text{OH}}$	Este trabalho
	F <sup>-</sup>	-0,13 $\pm 0,01$		$k_{\text{F}}$	Este trabalho
Reações com nucleófilos intramoleculares					
(RO) <sub>2</sub> P(O)O-salicil	orto-CO <sub>2</sub> <sup>-</sup> : <i>ciclicização</i>		-1,44	$k_{\text{obs}}$	32,31
( <b>59</b> e <b>60</b> , Figura 68, p.125)	<i>isomerização</i>	-0,20 $\pm 0,02$		$k_{\text{obs}}$	
(RO) <sub>2</sub> P(O)O-3'-Nucl.	2'-O <sup>-</sup> : <i>ciclicização</i>		-1,26 $\pm 0,07$	$k_{\text{cic}}$	48
( <b>58</b> , Esquema 26, p.122)	<i>isomerização</i>	-0,55 $\pm 0,08$		$k_{\text{is}}$	

- (vii) A baixa basicidade dos nitrogênios piridínicos do triéster **9**, comparada com a 2-metóxi-piridina ( $\text{p}K_{\text{a}} = 3,28$ ), é resultado do grande efeito eletro-retirador do grupo diaril fosforila.

- (viii) Por fim, conclui-se que a correlação de Khan não pode ser aplicada para prever a reatividade do triéster **9**. Dessa forma, não é a catálise básica geral que justifica sua alta reatividade. Este triéster não é  $10^8$  mais reativo que o esperado para um triéster derivado de um fenol com mesmo  $pK_a$ . A reatividade apresentada pelo triéster **9** é aquela esperada para um sistema triarílico.





## 7. ANEXOS

### 7.1. Dados cinéticos do triéster **9** (TPyP)

Tabela 19: Constantes de velocidade de hidrólise do triéster **9** em função do pH, 25°C e  $\mu=1,0$  M.

H <sub>0</sub> /pH (valores negativos <sup>a</sup> )	$k_{\text{obs}}$ (s <sup>-1</sup> )	log $k_{\text{obs}}$
-0,87	272,7 <sup>b</sup>	2,43569
-0,79	194,8 <sup>b</sup>	2,28959
-0,69	126,8 <sup>b</sup>	2,10312
-0,58	92,01 <sup>b</sup>	1,96384
-0,47	78,05 <sup>b</sup>	1,89237
-0,33	55,92 <sup>b</sup>	1,74757
-0,2	29,33 <sup>b</sup>	1,46731
0	30,1	1,47852
0,3	9,10	0,95914
1	1,12	0,05077
1,3	0,428	-0,36896
2	0,134	-0,87204
2,2	0,072	-1,14236
2,4	0,0432	-1,36415
2,6	0,0327	-1,48604
2,8	0,0220	-1,65812
3	0,0127	-1,89526
3,2	0,00678	-2,1685
3,4	0,00353	-2,4528
4	0,00179	-2,7469
5	$1,969 \times 10^{-4}$	-3,70575
6	$3,49 \times 10^{-5}$	-4,45717
6,98	$2,687 \times 10^{-5}$	-4,57073
7,93	$2,192 \times 10^{-5}$	-4,65916
8,95	$2,924 \times 10^{-5}$	-4,53402
10,04	$7,162 \times 10^{-5}$	-4,14497
11	$5,747 \times 10^{-4}$	-3,24056
12	0,0068	-2,16768

<sup>a</sup> Os valores negativos referem-se à escala de H<sub>0</sub> retirados de Paul e Long.<sup>50</sup> <sup>b</sup> As constantes foram medidas utilizando o *stopped flow* e são médias de pelo menos sete medidas em cada concentração de ácido.

## 7.2. Dados cinéticos do Inventário de prótons do triéster **9** (TPyP)

Tabela 20: Razão  $k_n/k_o$  em função da fração atômica de deutério

n (fração de átomos de deutério, D)	$k_n / k_o$
1	0,317
0,849	0,403
0,749	0,459
0,599	0,536
0,499	0,572
0,399	0,639
0,249	0,793
0,149	0,860
0	1

### 7.3. Dados cinéticos para a reação de hidrólise do triéster **22**

Tabela 21: Constantes de velocidade para a hidrólise do triéster **22** em função do pH/H<sub>0</sub>, a 45°C e  $\mu=1,0$  M (KCl).

H <sub>0</sub> /pH	$k_{\text{obs}}$ (s <sup>-1</sup> ) (T=25°C)	$k_{\text{obs}}$ (s <sup>-1</sup> ) (T=35°C)	$k_{\text{obs}}$ (s <sup>-1</sup> ) (T=45°C)	$k_{\text{obs}}$ (s <sup>-1</sup> ) (T=55°C)
-2,12 (6M HCl)	0,0093	0,0191	$3,98 \times 10^{-2}$	0,0793
-1,76 (5M HCl)	—	0,0238	$4,68 \times 10^{-2}$	0,0942
-1,69	0,0102	—	—	—
-1,40 (4M HCl)	—	0,0318	$5,89 \times 10^{-2}$	0,110
-1,25	0,0136	—	—	—
-1,05 (3M HCl)	0,0160	0,0396	$7,22 \times 10^{-2}$	0,128
-0,69 (2M HCl)	0,0225	0,0478	$8,51 \times 10^{-2}$	0,146
-0,2	0,0237	—	—	—
0	0,0252	0,0476	$8,42 \times 10^{-2}$	0,144
0,5	0,0135	0,0281	$4,65 \times 10^{-2}$	0,0924
1	0,00604	0,0117	$2,00 \times 10^{-2}$	0,0395
1,5	0,00227	0,00487	$7,22 \times 10^{-3}$	0,0139
2	$7,67 \times 10^{-4}$	—	$1,63 \times 10^{-3}$	—
3	$1,22 \times 10^{-4}$	—	$2,03 \times 10^{-4}$	—
4	$9,01 \times 10^{-6}$	—	$2,38 \times 10^{-5}$	—
5	$2,02 \times 10^{-6}$	—	$2,86 \times 10^{-6}$	—
6 *	—	—	$4,11 \times 10^{-7}$	$7,61 \times 10^{-7}$
7 *	—	—	$9,44 \times 10^{-8}$	$2,00 \times 10^{-7}$
8 *	—	—	$1,28 \times 10^{-7}$	—
9 *	—	—	$5,44 \times 10^{-7}$	$1,72 \times 10^{-6}$
10	—	—	$6,00 \times 10^{-6}$	$1,64 \times 10^{-5}$
10,41	—	—	$2,25 \times 10^{-5}$	—
11,41	—	—	$1,16 \times 10^{-4}$	—
12,41	—	—	$1,33 \times 10^{-3}$	—
13,41	—	—	$1,47 \times 10^{-2}$	—

\*Resultados obtidos pelo método de velocidades iniciais

#### 7.4. Dados cinéticos para a reação de hidrólise do triéster **23**

Tabela 22: Constantes de velocidade de hidrólise do **23** em função do pH

pH	$k_{\text{obs}} \text{ (s}^{-1}\text{)}$	$\log k_{\text{obs}} \text{ (s}^{-1}\text{)}$
-2,12	0,0024852	-2,4672456
-1,76	0,0024749	-2,5030704
-1,4	0,0021088	-2,6143937
-1,05	0,001595	-2,7520267
-0,69	0,0012366	-2,8860566
0,5	$5,8508 \times 10^{-4}$	-3,2327847
1	$4,9041 \times 10^{-4}$	-3,3094407
1,5	$4,6262 \times 10^{-4}$	-3,3347756
2,5	$2,0196 \times 10^{-4}$	-3,6947346
4,52	$5,237 \times 10^{-6}$	-5,2809174
6,21	$2,78 \times 10^{-6}$	-5,5559552
6,68	$2,03 \times 10^{-6}$	-5,6840297
7,1	$2,46 \times 10^{-6}$	-5,6090649
8	$2,68 \times 10^{-6}$	-5,5783961
9,4	$3,23 \times 10^{-6}$	-5,4907975
10,39	$1,289 \times 10^{-5}$	-4,8897471

## 7.5. Dados cinéticos para a reação de hidrólise dos triésteres **25a**, **25b** e **25c**

Tabela 23: Constantes de velocidade de hidrólise dos triésteres **25a**, **25b** e **25c** em diferentes concentrações de acetonitrila.

pH	25a			25b			25c		
	5%	30%	50%	5%	30%	50%	12,5%	30%	50%
2	$1,41 \times 10^{-4}$	$3,61 \times 10^{-5}$	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
4	$1,25 \times 10^{-4}$	$3,31 \times 10^{-5}$	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
5	-----	-----	-----	-----	-----	$1,23 \times 10^{-4}$	-----	-----	-----
7	$1,13 \times 10^{-4}$	$3,53 \times 10^{-5}$	$1,46 \times 10^{-5}$	$1,27 \times 10^{-3}$	$3,47 \times 10^{-4}$	$1,28 \times 10^{-4}$	$1,18 \times 10^{-5}$	$6,84 \times 10^{-6}$	$3,02 \times 10^{-6}$
8	$1,02 \times 10^{-4}$	$3,24 \times 10^{-5}$	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
9	-----		-----	-----		$1,95 \times 10^{-4}$	-----	-----	-----
10	-----	$1,25 \times 10^{-4}$	$3,77 \times 10^{-5}$	-----	$6,18 \times 10^{-4}$	$2,70 \times 10^{-4}$	-----	-----	-----
11	-----	$5,52 \times 10^{-4}$	$1,22 \times 10^{-4}$	-----	$1,66 \times 10^{-3}$	$5,06 \times 10^{-4}$	-----	-----	-----
12	-----	$2,67 \times 10^{-3}$	$5,52 \times 10^{-4}$	-----	$6,83 \times 10^{-3}$	$1,61 \times 10^{-3}$	-----	-----	-----

## 7.6. Dados de catálise por tampão de triaril fosfatos

Tabela 24: Efeito do tampão (N-metil-morfolina; NMM) nas Constantes de velocidade da reação de hidrólise de sete triaril fosfatos a 25°C.<sup>a</sup>

		<b>(Py-2-O)<sub>3</sub>P=O (Triéster 9)</b>			
		$k_{\text{obs}}$ (s <sup>-1</sup> ) em diferentes concentrações de tampão NMM			
% base livre	pH	50 mM	100 mM	150 mM	200 mM
30	7,4	$4,41 \times 10^{-5}$	$6,42 \times 10^{-5}$	$9,26 \times 10^{-5}$	$1,10 \times 10^{-4}$
50	7,8	$6,99 \times 10^{-5}$	$1,06 \times 10^{-4}$	$1,57 \times 10^{-4}$	$1,91 \times 10^{-4}$
70	8,2	$9,00 \times 10^{-5}$	$1,37 \times 10^{-4}$	$2,05 \times 10^{-4}$	$2,49 \times 10^{-4}$
		$k_{\text{H}}$ (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )	$k_{\text{OH}}$ (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )	$k_0$ (s <sup>-1</sup> )	$k_{\text{tampão}}$ (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )
		16±2	0,81±0,02	2,2±0,4 ×10 <sup>-5</sup>	1,60±0,06 ×10 <sup>-3</sup>

		<b>(4-NO<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>O)(Py-2-O)<sub>2</sub>P=O (Triéster 30)</b>			
		$k_{\text{obs}}$ (s <sup>-1</sup> ) em diferentes concentrações de tampão NMM			
% base livre	pH	50 mM	100 mM	150 mM	200 mM
30	7,3	$1,58 \times 10^{-4}$	$2,41 \times 10^{-4}$	$3,07 \times 10^{-4}$	$4,09 \times 10^{-4}$
50	7,7	$2,27 \times 10^{-4}$	$3,76 \times 10^{-4}$	$5,22 \times 10^{-4}$	$6,56 \times 10^{-4}$
70	8,1	$2,89 \times 10^{-4}$	$5,22 \times 10^{-4}$	$7,06 \times 10^{-4}$	$9,05 \times 10^{-4}$
		$k_{\text{H}}$ (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )	$k_{\text{OH}}$ (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )	$k_0$ (s <sup>-1</sup> )	$k_{\text{tampão}}$ (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )
		8,3±0,9	1,4±0,3	8,5±0,8 ×10 <sup>-5</sup>	5,8±0,2 ×10 <sup>-3</sup>

55% de quebra liberando 4-NO<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>O.<sup>b</sup>

<b>(4-ClC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>O)(Py-2-O)<sub>2</sub>P=O (Triéster 33)</b>					
$k_{\text{obs}}$ (s <sup>-1</sup> ) em diferentes concentrações de tampão NMM					
% base livre	pH	50 mM	100 mM	150 mM	200 mM
30	7,4	$3,00 \times 10^{-5}$	$4,93 \times 10^{-5}$	$6,31 \times 10^{-5}$	$7,34 \times 10^{-4}$
50	7,8	$5,09 \times 10^{-5}$	$8,34 \times 10^{-5}$	$1,10 \times 10^{-4}$	$1,34 \times 10^{-4}$
70	8,2	$6,81 \times 10^{-5}$	$1,09 \times 10^{-4}$	$1,37 \times 10^{-4}$	$1,71 \times 10^{-4}$
		$k_{\text{H}}$ (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )	$k_{\text{OH}}$ (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )	$k_0$ (s <sup>-1</sup> )	$k_{\text{tampão}}$ (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )
		5,7±0,4	0,6±0,2	$2,6 \pm 0,3 \times 10^{-5}$	$1,04 \pm 0,07 \times 10^{-3}$

<b>(Py-2-O)(4-NO<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>O)<sub>2</sub>P=O em 30% dioxano (Triéster 35)</b>					
$k_{\text{obs}}$ (s <sup>-1</sup> ) em diferentes concentrações de tampão NMM					
% base livre	pH	50 mM	100 mM	150 mM	200 mM
30	7,3	$2,48 \times 10^{-4}$	$3,59 \times 10^{-4}$	$5,51 \times 10^{-4}$	$6,96 \times 10^{-4}$
50	7,7	$3,59 \times 10^{-4}$	$6,23 \times 10^{-4}$	$9,44 \times 10^{-4}$	$1,23 \times 10^{-3}$
70	8,1	$4,74 \times 10^{-4}$	$8,64 \times 10^{-4}$	$1,29 \times 10^{-3}$	$1,73 \times 10^{-3}$
		$k_{\text{H}}$ (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )	$k_{\text{OH}}$ (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )	$k_0$ (s <sup>-1</sup> )	$k_{\text{tampão}}$ (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )
		-	3,0±0,2	$6 \pm 1 \times 10^{-5}$	$1,16 \pm 0,02 \times 10^{-2}$

<b>(4-NO<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>O)(4-ClC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>O)<sub>2</sub>P=O em 30% dioxano (Triéster 36)</b>					
$k_{\text{obs}}$ (s <sup>-1</sup> ) em diferentes concentrações de tampão NMM					
% base livre	pH	50 mM	100 mM	150 mM	200 mM
30	7,3	$3,34 \times 10^{-5}$	$5,43 \times 10^{-5}$	$8,81 \times 10^{-5}$	$1,16 \times 10^{-4}$
50	7,7	$6,22 \times 10^{-5}$	$1,15 \times 10^{-4}$	$1,75 \times 10^{-4}$	$2,34 \times 10^{-4}$
70	8,1	$9,20 \times 10^{-5}$	$1,68 \times 10^{-4}$	$2,54 \times 10^{-4}$	$3,31 \times 10^{-4}$
		$k_{\text{H}}$ (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )	$k_{\text{OH}}$ (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )	$k_0$ (s <sup>-1</sup> )	$k_{\text{tampão}}$ (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )
		-	0,77±0,04	$5 \pm 2 \times 10^{-6}$	$2,31 \pm 0,1 \times 10^{-3}$

<b>(4-NO<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>O)(4-SO<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>O)<sub>2</sub>P=O (Triéster 39)</b>					
<i>k<sub>obs</sub></i> (s <sup>-1</sup> ) em diferentes concentrações de tampão NMM					
% base livre	pH	50 mM	100 mM	150 mM	200 mM
30	7,3	1,81×10 <sup>-4</sup>	3,19×10 <sup>-4</sup>	4,43×10 <sup>-4</sup>	5,88×10 <sup>-4</sup>
50	7,7	2,93×10 <sup>-4</sup>	5,48×10 <sup>-4</sup>	7,49×10 <sup>-4</sup>	1,01×10 <sup>-3</sup>
70	8,1	3,95×10 <sup>-4</sup>	7,75×10 <sup>-4</sup>	1,07×10 <sup>-3</sup>	1,41×10 <sup>-3</sup>
		<i>k<sub>H</sub></i> (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )	<i>k<sub>OH</sub></i> (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )	<i>k<sub>0</sub></i> (s <sup>-1</sup> )	<i>k<sub>tampão</sub></i> (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )
		-	2,6±0,1	6±1×10 <sup>-5</sup>	9,5±0,2 ×10 <sup>-3</sup>

68% de quebra liberando 4-NO<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>O.<sup>c</sup>

<b>(4-NO<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>O)(C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O)<sub>2</sub>P=O em 30% dioxano (Triéster 40)</b>					
<i>k<sub>obs</sub></i> (s <sup>-1</sup> ) em diferentes concentrações de tampão NMM					
% base livre	pH	50 mM	100 mM	150 mM	200 mM
30	7,3	8,17×10 <sup>-6</sup>	1,10×10 <sup>-5</sup>	1,55×10 <sup>-5</sup>	1,89×10 <sup>-5</sup>
50	7,7	1,15×10 <sup>-5</sup>	1,76×10 <sup>-5</sup>	2,46×10 <sup>-5</sup>	3,20×10 <sup>-5</sup>
70	8,1	1,46×10 <sup>-5</sup>	2,27×10 <sup>-5</sup>	3,28×10 <sup>-5</sup>	4,40×10 <sup>-5</sup>
		<i>k<sub>H</sub></i> (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )	<i>k<sub>OH</sub></i> (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )	<i>k<sub>0</sub></i> (s <sup>-1</sup> )	<i>k<sub>tampão</sub></i> (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )
		-	1,50±0,02	3,8±0,5×10 <sup>-6</sup>	2,78±0,06 ×10 <sup>-4</sup>

Notas. Condições experimentais: [Tampão] NMM 50, 100, 150 e 200 mM a 30, 50 e 70% de base livre. <sup>a</sup>Analizadas por regressão linear em termos de  $k_{\text{obs}} = k_0 + k_2[\text{NMM}_{\text{bl}}] + k_{\text{H}}[\text{H}^+] + k_{\text{OH}}[\text{OH}]$ . À exceção do TPP, os dados para os demais triésteres foram gentilmente cedidos por Nicholas H. Williams e Almahdi Amer. <sup>b</sup>Medidas em 30% dioxano-água. <sup>b</sup> 55% do produto formado ocorre via quebra da ligação P-OpNP. <sup>c</sup> 68% via quebra da ligação P-O do grupo 4-nitrofeolato.



### 7.7. Dados de catálise por tampão de dialquil aril fosfatos

Tabela 25: Efeito do tampão (acetato) nas Constantes de velocidade da hidrólise de quatro triésteres de fosfato dialquil arílicos a 25°C.<sup>a</sup>

<b>(4-NO<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>O)(CF<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>P=O (Triéster 42)</b>						
		$k_{\text{obs}}$ (s <sup>-1</sup> ) em diferentes concentrações de tampão NMM				
% base livre	pH	10 mM	50 mM	100 mM	150 mM	200 mM
30	7,4	1,47×10 <sup>-5</sup>	3,70 ×10 <sup>-5</sup>	5,87 ×10 <sup>-5</sup>	8,99 ×10 <sup>-5</sup>	1,09 ×10 <sup>-5</sup>
50	7,8	1,15×10 <sup>-5</sup>	1,15 ×10 <sup>-5</sup>	1,76 ×10 <sup>-5</sup>	2,46 ×10 <sup>-5</sup>	3,20 ×10 <sup>-5</sup>
70	8,2	1,46×10 <sup>-5</sup>	1,46 ×10 <sup>-5</sup>	2,27 ×10 <sup>-5</sup>	3,28 ×10 <sup>-5</sup>	4,40 ×10 <sup>-5</sup>
			$k_{\text{H}}$ (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )	$k_{\text{OH}}$ (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )	$k_0$ (s <sup>-1</sup> )	$k_{\text{tampão}}$ (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )
			-	2,99 ±0,07	1,3± 0,4×10 <sup>-5</sup>	2,0±0,1 ×10 <sup>-3</sup>

<b>(4-NO<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>O)(CF<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>P=O (Triéster 42)</b>					
		$k_{\text{obs}}$ (s <sup>-1</sup> ) em diferentes concentrações de tampão acetato			
% base livre	pH	50 mM	100 mM	150 mM	200 mM
30	4,2	1,17×10 <sup>-5</sup>	1,78 ×10 <sup>-5</sup>	2,45 ×10 <sup>-5</sup>	2,61×10 <sup>-5</sup>
50	4,6	1,83×10 <sup>-5</sup>	2,12 ×10 <sup>-5</sup>	3,21 ×10 <sup>-5</sup>	3,87×10 <sup>-5</sup>
70	5,1	2,27×10 <sup>-5</sup>	2,82 ×10 <sup>-5</sup>	3,95 ×10 <sup>-5</sup>	5,06×10 <sup>-5</sup>
		$k_{\text{H}}$ (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )	$k_{\text{OH}}$ (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )	$k_0$ (s <sup>-1</sup> )	$k_{\text{tampão}}$ (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )
		-	2,99 ±0,07	9±1 ×10 <sup>-6</sup>	2,92±0,01 ×10 <sup>-4</sup>

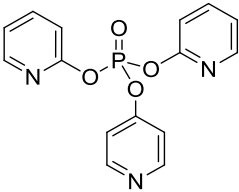
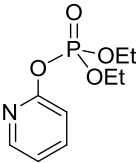
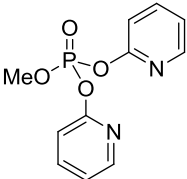
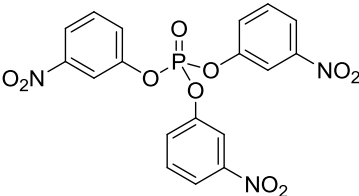
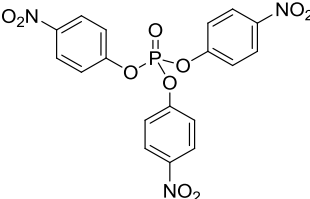
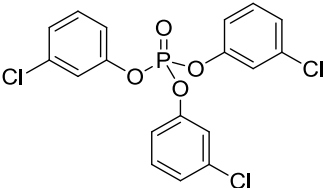
<b>(3-F-4-NO<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>3</sub>O)(CF<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>P=O (Triéster 45)</b>						
		$k_{\text{obs}}$ (s <sup>-1</sup> ) em diferentes concentrações de tampão acetato				
% base livre	pH	10 mM	50 mM	100 mM	150 mM	200 mM
30	4,2	6,87 ×10 <sup>-5</sup>	9,12 ×10 <sup>-5</sup>	1,12 ×10 <sup>-4</sup>	1,39 ×10 <sup>-4</sup>	1,48 ×10 <sup>-4</sup>
50	4,6	7,37 ×10 <sup>-5</sup>	1,10 ×10 <sup>-4</sup>	1,45 ×10 <sup>-4</sup>	1,76 ×10 <sup>-4</sup>	2,13 ×10 <sup>-4</sup>
70	5,1	8,65 ×10 <sup>-5</sup>	1,29 ×10 <sup>-4</sup>	1,77 ×10 <sup>-4</sup>	2,31 ×10 <sup>-4</sup>	2,76 ×10 <sup>-4</sup>
			$k_{\text{H}}$ (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )	$k_{\text{OH}}$ (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )	$k_0$ (s <sup>-1</sup> )	$k_{\text{tampão}}$ (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )
			-	7,9±0,2	7,2±0,4 ×10 <sup>-5</sup>	1,45±0,03 ×10 <sup>-3</sup>

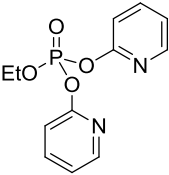
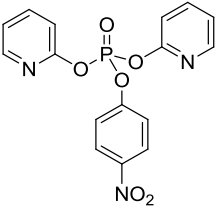
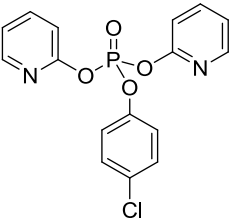
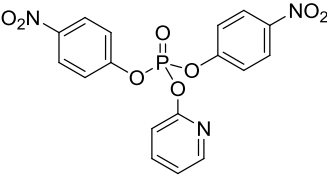
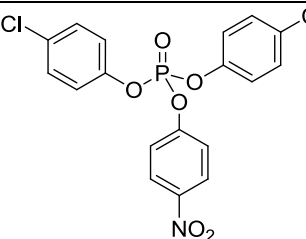
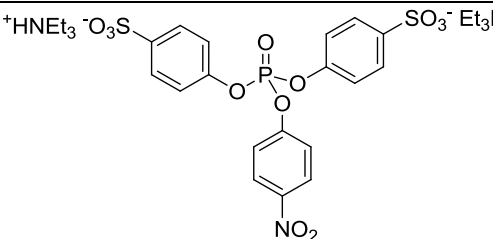
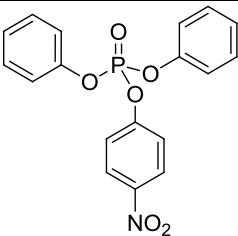
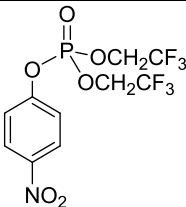
<b>(2,4-(NO<sub>2</sub>)<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>3</sub>O)(CF<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>P=O (Triéster 48)</b>						
		$k_{\text{obs}}$ (s <sup>-1</sup> ) em diferentes concentrações de tampão acetato				
% base livre	pH	10 mM	50 mM	100 mM	150 mM	200 mM
30	4,2	1,10 ×10 <sup>-2</sup>	1,18 ×10 <sup>-2</sup>	1,28 ×10 <sup>-2</sup>	1,47 ×10 <sup>-2</sup>	1,48 ×10 <sup>-2</sup>
50	4,6	1,09 ×10 <sup>-2</sup>	1,32 ×10 <sup>-2</sup>	1,47 ×10 <sup>-2</sup>	1,75 ×10 <sup>-2</sup>	1,79 ×10 <sup>-2</sup>
70	5,1	1,16 ×10 <sup>-2</sup>	1,36 ×10 <sup>-2</sup>	1,63 ×10 <sup>-2</sup>	1,99 ×10 <sup>-2</sup>	2,13 ×10 <sup>-2</sup>
			$k_{\text{H}}$ (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )	$k_{\text{OH}}$ (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )	$k_0$ (s <sup>-1</sup> )	$k_{\text{tampão}}$ (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )
			-	17±1	1,10±0,02 ×10 <sup>-2</sup>	7,6±0,2 ×10 <sup>-2</sup>

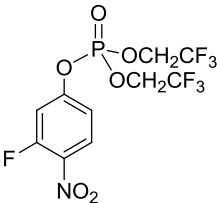
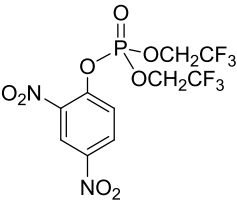
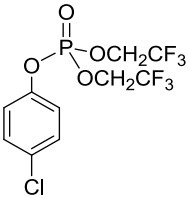
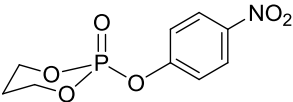
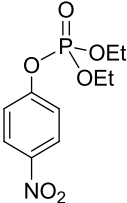
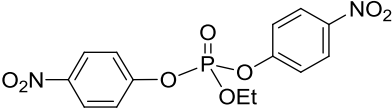
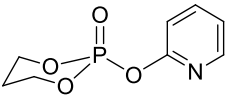
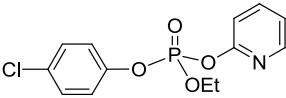
Notas. Condições experimentais: [Tampão] Acetato 50, 100, 150 e 200 mM a 30, 50 e 70% de base livre. <sup>a</sup>Analizadas por regressão linear em termos de  $k_{\text{obs}} = k_0 + k_2[\text{Acetato}_{\text{bl}}] + k_{\text{H}}[\text{H}^+] + k_{\text{OH}}[\text{OH}]$ . Os dados cinéticos foram gentilmente cedidos por Nicholas H. Williams e Almahdi Amer.

(4-ClC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> O)(CF <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> O) <sub>2</sub> P=O (Triéster 49)					
		$k_H$ (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )	$k_{OH}$ (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )	$k_0$ (s <sup>-1</sup> )	$k_{\text{tampão}}$ (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )
		-	0,69±0,02	-	

## 7.8. Lista de Estruturas

 <p><b>9</b> <b>Tri-2-piridilfosfato</b></p>	 <p><b>22</b> <b>Dietil-2-piridil fosfato</b></p>
 <p><b>23</b> <b>Metil di-2-piridil fosfato</b></p>	 <p><b>25a</b> <b>Tri-3-nitrofenil fosfato</b></p>
 <p><b>25b</b> <b>Tri-4-nitrofenil-fosfato</b></p>	 <p><b>25c</b> <b>Tri-3-clorofenil fosfato</b></p>

 <p><b>28</b> <b>Etil di-2-piridil-fosfato</b></p>	 <p><b>30</b> <b>4-nitrofenil di-2-piridil fosfato</b></p>
 <p><b>33</b> <b>4-clorofenil di-2-piridil fosfato</b></p>	 <p><b>35</b> <b>di-4-nitrofenil 2-piridil fosfato</b></p>
 <p><b>36</b> <b>di-4-clorofenil 4-nitrofenil fosfato</b></p>	 <p><b>39</b> <b>di-(4-sulfonato-fenil)-(4-nitrofenil) fosfato de bis-trietilamônio</b></p>
 <p><b>40</b> <b>difenil 4-nitrofenil</b></p>	 <p><b>42</b> <b>di-trifluoretil 4-nitrofenil fosfato</b></p>

 <p style="text-align: center;"><b>45</b></p> <p><b>di-trifluoretil 3-fluor-4-nitrofenil fosfato</b></p>	 <p style="text-align: center;"><b>48</b></p> <p><b>di-trifluoretil-2,4-dinitrofenil-fosfato</b></p>
 <p style="text-align: center;"><b>49</b></p> <p><b>di-trifluoretil-4-clorofenil-fosfato</b></p>	 <p style="text-align: center;"><b>52</b></p> <p><b>4-nitrofenil-fosfato</b></p>
 <p style="text-align: center;"><b>55</b></p> <p><b>dietil-4-nitrofenil-fosfato</b></p>	 <p style="text-align: center;"><b>56</b></p> <p><b>di-4-nitrofenil-etil fosfato</b></p>
 <p style="text-align: center;"><b>57</b></p>	 <p style="text-align: center;"><b>59</b></p> <p><b>4-clorofenil-etil-(2-piridil) fosfato</b></p>



## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1        Fersht, A. Structure and Mechanism in Protein Science: A Guide to Enzyme Catalysis and Protein Folding. Nova York: W.H. Freeman and Company, 1999. 630 p.
- 2        Corbridge, D.E.C. Phosphorus. An outline of its chemistry, biochemistry and technology Amsterdam: Elsevier Scientific Publishing Company, 1978. 454 p.
- 3        Barford, D., Das, A.K. e Egloff, M.P. The structure and mechanism of protein phosphatases: Insights into catalysis and regulation. *Annual Review of Biophysics and Biomolecular Structure*, v.27, p.133-164. 1998.
- 4        Ruddon, P.B.M.R.W., Ed. Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics New York: Mc Graw-Hill, 9 ed. 1996.
- 5        Cox, J.J. e Ramsay, O.B. Mechanisms of Nucleophilic Substitution in Phosphate Esters. *Chemical Reviews*, v.64, p.317-352. 1964.
- 6        Kirby, A.J. e Varvoglis, A.G. The Reactivity of Phosphate Esters. Monoester Hydrolysis. *Journal of the American Chemical Society*, v.89, p.415-423. 1967.
- 7        Jones, P.G. e Kirby, A.J. Simple Correlation Between Bond Length and Reactivity. Combined use of Crystallographic and Kinetic Data to Explore a Reaction Coordinate. *Journal of the American Chemical Society*, v.106, p.6207-6212. 1984.
- 8        Guthrie, R.D. e Jencks, W.P. Iupac Recommendations for the Representation of Reaction-Mechanisms. *Accounts of Chemical Research*, v.22, n.10, p.343-349. 1989.
- 9        Henchmann, M., Viggiano, A.A., Paulson, J.F., Fredam, A. e Wormhoudt, J. Thermodynamic and Kinetic Properties of the Metaphosphate Anion,  $\text{PO}_3^-$ , in the Gas Phase. *Journal of the American Chemical Society*, v.107, p.1453-1455. 1985.
- 10      Knowles, J.R. Enzyme-catalyzed Phosphoryl Transfer Reactions. *Annual Review of Biochemistry*, v.49, p.877-919. 1980.

- 11** Holmes, R.R. Phosphoryl Transfer Enzymes and hypervalent Phosphorus Chemistry. *Accounts of Chemical Research*, v.37, p.746-753. 2004.
- 12** Ugi, I., Marquarding, D., Klusacek, H., Gillespie, P. e Ramirez, F. Berry Pseudorotation and Turnstile Rotation. *Accounts of Chemical Research*, v.4, p.288-296. 1971, Benkovic, S.J. e Scharay, K.J. The Mechanism of Phosphoryl Transfer. In: R.D. Gandour e Schowen, R.L. (Ed.). *Transition States of Biochemical Processes*. New York: Plenum Press, 1978. The Mechanism of Phosphoryl Transfer., p.493-527
- 13** Khan, S.A. e Kirby, A.J. The Reactivity of Phosphate Esters. Multiple Structure-Reactivity Correlations for the Reactions of Triesters with Nucleophiles. *Journal of the Chemical Society B-Physical Organic* p.1172-1182 1970
- 14** Kirby, A.J. e Varvoglis, A.G. The Reactivity of Phosphate Esters : Reactions of Monoesters with Nucleophiles. Nucleophilicity Independent of Basicity in a Bimolecular Substitution Reaction. *Journal of the Chemical Society (B)*, p.135-141. 1968.
- 15** Kirby, A.J. e Younas, M. The Reactivity of Phosphate Esters. Diester Hydrolysis. *Journal of the Chemical Society (B)*, p.510-513. 1970.
- 16** Kirby, A.J. *Advances in Physical Organic Chemistry*: Elsevier, 1981 v.17
- 17** Orth, E.S., Brandao, T.A.S., Souza, B.S., Pliego, J.R., Vaz, B.G., Eberlin, M.N., Kirby, A.J. e Nome, F. Intramolecular Catalysis of Phosphodiester Hydrolysis by Two Imidazoles. *Journal of the American Chemical Society*, v.132, n.24, p.8513-8523. 2010.
- 18** Williams, N.H. Models for biological phosphoryl transfer. *Biochimica Et Biophysica Acta-Proteins and Proteomics*, v.1697, n.1-2, p.279-287. 2004.
- 19** Souza, B.S., Brandao, T.A.S., Orth, E.S., Roma, A.C., Longo, R.L., Bunton, C.A. e Nome, F. Hydrolysis of 8-Quinolyl Phosphate Monoester: Kinetic and Theoretical Studies of the Effect of Lanthanide Ions. *Journal of Organic Chemistry*, v.74, n.3, p.1042-1053. 2009.
- 20** Allen, F.H. e Kirby, A.J. Bond Length and Reactivity. Variable Length of the C-O Single Bond. . *Journal of the American Chemical Society*, v.106, p.6197-6200. 1984.



- 21** Kirby, A.J. Stereoelectronic Effects on Bond Length and Reactivity. *Pure & Appl. Chem.*, v.59, p.1605-1612. 1987.
- 22** Briggs, A.J., Glenn, R., Jones, P.G., Kirby, A.J. e Ramaswamy, P. Bond Length and Reactivity. Stereoelectronic Effects on Bonding in Acetals and Glucosides. *Journal of the American Chemical Society*, v.106, p.6200-6206. 1984.
- 23** Domingos, J.B., Longhinotti, E., Machado, V.G. e Nome, F. A Química dos Ésteres de Fosfato. *Química Nova*, v.26, p.745-753. 2003, Lum, R.C. e Grabowski, J.J. The Intrinsic Competition between Elimination and Substitution Mechanisms Is Controlled by Nucleophile Structure. *Journal of the American Chemical Society*, v.114, n.24, p.9663-9665. 1992, Lum, R.C. e Grabowski, J.J. Trimethyl Phosphate - the Intrinsic Reactivity of Carbon Versus Phosphorus Sites with Anionic Nucleophiles. *Journal of the American Chemical Society*, v.114, n.22, p.8619-8627. 1992, Lum, R.C. e Grabowski, J.J. The Intrinsic Competition between Substitution and Elimination in Gas-Phase Ion-Molecule Reactions. *Abstracts of Papers of the American Chemical Society*, v.203, p.279-ORGN. 1992.
- 24** Bronsted, J.N. Acid and Base Catalysis. *Chemical Reviews*, v.5, n.3, p.231-338. 1928.
- 25** Hammett, L.P. The effect of structure upon the reactivity of organic compounds. *Journal of the American Chemical Society*, v.59, p.96. 1937.
- 26** Hammett, L.P. Physical Organic Chemistry.2. Nova York: McGraw-Hill, 1970
- 27** Charton, M. Electrical Effect Substituent Constants for Correlation Analysis. *Progress in Physical Organic Chemistry*, v.13, p.119-251. 1981, Hansch, H., Leo, A. e Taft, R.W. A Survey of Hammett Substituent Constants and Resonance and Field Parameters. *Chemical Reviews*, v.91, p.165-195. 1991.
- 28** Williams, A. Free Energy Relationships in Organic and Bioorganic Chemistry Cambridge: RSC, 2003. 62 p.
- 29** Mayr, H., Kuhn, O., Gotta, M.F. e Patz, M. Linear Free Energy Relationships: A Powerful Tool for the Design of Organic and Organometallic Synthesis. *Journal of Physical Organic Chemistry*, v.11, p.642-654. 1998.

- 30** Kirby, A.J. e Jencks, W.P. Reactivity of Nucleophilic Reagents toward P-Nitrophenyl Phosphate Dianion. *Journal of the American Chemical Society*, v.87, n.14, p.3209. 1965.
- 31** Bromilow, R.H., Khan, S.A. e Kirby, A.J. Intramolecular Catalysis of Phosphate Triester Hydrolysis - Nucleophilic Catalysis by Neighbouring Carboxyl Group of Hydrolysis of Dialkyl 2-Carboxyphenyl Phosphates. *Journal of the Chemical Society B-Physical Organic*, n.6, p.1091-1097. 1971.
- 32** Bromilow, R.H., Khan, S.A. e Kirby, A.J. Intramolecular Catalysis of Phosphate Triester Hydrolysis - Nucleophilic Catalysis by Neighboring Carboxy-Group of Hydrolysis of Diaryl 2-Carboxyphenyl Phosphates. *Journal of the Chemical Society-Perkin Transactions 2*, n.7, p.911-918. 1972.
- 33** Nome, F., Kirby, A.J., Medeiros, M., Oliveira, P.S.M. e Brandao, T.A.S. Activating Water: Efficient Intramolecular General Base Catalysis of the Hydrolysis of a Phosphate Triester. *Chemistry-A European Journal*, v.15, n.34, p.8475-8479. 2009.
- 34** Nakayama, K. e Thompson, W.J. A highly enantioselective synthesis of phosphate triesters. *Journal of the american chemical society*, v.112, n.19, p.6936-6942. 1990.
- 35** Sofikiti, N. e Stratakis, M. An indirect method for the oxidation of aryl phosphites to phosphates and aryl selenoxides to selenones. *Arkivoc*, v.vi, p.30-35. 2003.
- 36** Schowen, F.J.A.R.L. Isotope Effects in Organic Chemistry New York Elsevier, 1987 v.vol. 7
- 37** Ilia, G., Iliescu, S. e Popa, A. A new method for the synthesis of triaryl phosphates. *Green Chemistry*, v.7, p.217-218. 2005.
- 38** Schowen, K.B.J. Transitions States in Biological Processes New York: Plenum, 1978
- 39** Bunton, C.A., Farber, S.J. e Fendler, E.J. Hydrolysis of *p*-Nitrophenyl Diphenyl Phosphate. *Journal of Organic Chemistry*, v.33, n.1, p.29-&. 1968.
- 40** Barnard, P.W.C., Bunton, C.A., Kellerman.D, Mhala, M.M., Silver, B., Vernon, C.A. e Welch, V.A. Reactions of Organic Phosphates .Part VI. Hydrolysis of Aryl Phosphates. *Journal of the Chemical Society B-Physical Organic*, n.3, p.227-235. 1966.

- 41** Kirby, A.J., Medeiros, M., Oliveira, P.S.M., Brandao, T.A.S. e Nome, F. Activating Water: Efficient Intramolecular General Base Catalysis of the Hydrolysis of a Phosphate Triester. *Chemistry-A European Journal*, v.15, n.34, p.8475-8479. 2009.
- 42** Kirby, A.J., Lima, M.F., Silva, D., Roussev, C.D. e Nome, F. Efficient Intramolecular General Acid Catalysis of Nucleophilic Attack on a Phosphodiester. *Journal of the American Chemical Society*, v.128, p.16944-16952. 2006.
- 43** Albert, A. e Phillips, J.N. Ionization Constants of Heterocyclic Substances .2. Hydroxy-Derivatives of Nitrogenous Six-Membered Ring-Compounds. *Journal of the Chemical Society*, n.Jun, p.1294-1304. 1956.
- 44** Cuccovia, I.M., Costas-Costas, U., Bravo-Diaz, C. e Chaimovich, H. Solvolysis of Tris-p-nitrophenyl-phosphate in aqueous and reverse micelles. *Colloids and Surfaces a-Physicochemical and Engineering Aspects*, v.250, n.1-3, p.385-394. 2004.
- 45** Lyznicki, E.P., Oyama, K. e Tidwell, T.T. Reactivity of Organophosphates .4. Acid-Catalyzed Hydrolysis of Triethyl Phosphate - Comparison with Ethyl-Acetate. *Canadian Journal of Chemistry-Revue Canadienne De Chimie*, v.52, n.7, p.1066-1071. 1974.
- 46** Ketelaar, J.A.A., Gersmann, H.R. e Koopmans, K. The rate of hydrolysis of some p-nitrophenol esters of ortho-phosphoric- and thio-phosphoric acid. *Recueil Des Travaux Chimiques Des Pays-Bas-Journal of the Royal Netherlands Chemical Society* v.71, n.12, p.1253-1258. 1952.
- 47** Hay, R.W. e Govan, N. The reactivity of metal-hydroxo nucleophiles and a range of bases in the hydrolysis of the phosphate triester 2,4-dinitrophenyl diethyl phosphate. *Polyhedron*, v.15, n.14, p.2381-2386. 1996.
- 48** Kosonen, M., Hakala, K. e Lonnberg, H. Hydrolysis and intramolecular transesterification of ribonucleoside 3'-phosphotriesters: the effect of alkyl groups on the general and specific acid-base-catalyzed reactions of 5'-O-pivaloyluridin-3'-yl dialkyl phosphates. *Journal of the Chemical Society-Perkin Transactions 2*, n.3, p.663-670. 1998.

**49** Lonnberg, H., Stromberg, R. e Williams, A. Compelling evidence for a stepwise mechanism of the alkaline cyclisation of uridine 3 '-phosphate esters. *Organic & Biomolecular Chemistry*, v.2, n.15, p.2165-2167. 2004.

**50** Paul, M.A. e Long, F.A. *Chemical Reviews*, v.56, p.1-45. 1956